



# **Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Farmacia y Bioquímica**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

## **Actividad antimicrobiana, antioxidante in vitro y determinación de la composición química de tres aceites esenciales del género Senecio del Perú**

### **TESIS**

**Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico**

### **AUTOR**

**Hattie ALDERETE ESPEJO**

### **ASESOR**

**Julio Reynaldo RUIZ QUIROZ**

**Américo Jorge CASTRO LUNA**

**Lima, Perú**

**2017**



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

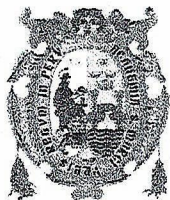
## Referencia bibliográfica

---

Alderete H. Actividad antimicrobiana, antioxidante in vitro y determinación de la composición química de tres aceites esenciales del género *Senecio* del Perú [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2017 .

---

1402



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
 Universidad del Perú. Decana de América  
**Facultad de Farmacia y Bioquímica**  
**Decanato**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**Actividad antimicrobiana, antioxidante *in vitro* y determinación de la composición química de tres aceites esenciales del género *Senecio* del Perú**

Que presenta la Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

**HATTIE ALDERETE ESPEJO**

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

*SOBRESALIENTE 18*

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 22 de noviembre de 2017.

*[Firma]*  
 Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera  
 Presidente

*[Firma]*  
 Dra. María Elena Salazar Salvatierra  
 Miembro

*[Firma]*  
 Mg. Carmen Gladys Peña Suasnabar  
 Miembro

*[Firma]*  
 Q.F. María Rosario Carreño Quispe  
 Miembro



**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**

## DEDICATORIA

***A Dios***, por regalarme el milagro de la vida, además de su infinita bondad y amor.

***A mi padre Teobaldo***, quien con acciones ejemplares me enseñó a no desfallecer jamás y comprender que los sueños se logran a base de sacrificio y dedicación. Por ser el mejor papá, amigo, cómplice y el hombre más importante de mi vida, mi amor.

***A mi madre Ana Isabel***, por hacer de mí una mujer con carácter, fuerza y principios, por todo el sacrificio y amor infinito que día a día entrega a su familia. Porque durante este proceso la sufrimos juntas, este logro es más suyo que mío.

***A mis hermanos Yholtan, Brownny y Yhaendell***, por la exigencia y apoyo en cada proyecto, por comprender mi ausencia en momentos importantes, por demostrarme su preocupación y amor incondicional. Porque siempre caminaremos de la mano, en lo dulce y amargo.

***A mis abuelitos, tíos, primos y padrinos***, por creer siempre en mí y ser mi fuente de apoyo emocional, pero sobre todo, por estar siempre a mi lado con todo su amor.

Siempre para Ustedes,

¡Los amo con todas las fuerzas de mi ser!

## AGRADECIMIENTOS

Al **Mg. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz**, por confiar en mi cuando este proyecto era solo una idea, sin su apoyo incondicional y dirección, este trabajo no sería posible.

Al **Dr. Américo Jorge Castro Luna** por su entusiasmo en compartir su amplia experiencia en el campo de Recursos Naturales para la culminación de esta tesis.

A los miembros del jurado examinador y calificador: **Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera, Dra. María Elena Salazar Salvatierra, Mg. Carmen Gladys Peña Suasnabar y Q.F. María Rosario Carreño Quispe**, por el tiempo otorgado a la revisión de este trabajo y sus valiosas recomendaciones para mejora de la misma.

Al **Mg. Sixto Gonzales Elera**, docente de nuestra facultad, por su colaboración y apreciado aporte durante la determinación de la composición química.

A la **Dra. Nancy Lozano Reyes y Mg. Gloria Gordillo Rocha**, por su amistad sincera, por su importante apoyo, consejos y motivación para alcanzar mis anhelos.

A todos los docentes de nuestra Facultad, por su admirable dedicación y entrega total por hacer de nuestra profesión un referente de nuestra sociedad.

Al **Dr. Francisco Bernales**, por encomendarse a Dios en un momento difícil de mi vida y permitir que hoy disfrute de salud; por su amistad y cariño a mi familia.

A todos los que hicieron posible concretar este proyecto, asimismo a mis amigos de siempre por compartir conmigo esta hermosa profesión.

¡Toda mi gratitud y respeto hacia Ustedes!

## ÍNDICE

RESUMEN	X
SUMMARY	XI
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivo General	2
1.2. Objetivos específicos	2
1.3. Hipótesis	3
II. GENERALIDADES	4
2.1. Antecedentes generales.	4
2.2. Marco teórico.	7
2.2.1. Plantas medicinales.	7
2.2.2. Plantas aromáticas.	8
2.2.3. Familia Asteraceae.	8
2.2.4. Género <i>Senecio</i> .	9
2.2.5. Plantas Medicinales en estudio.	10
2.2.5.1. <i>Senecio nutans</i> Sch. Bip.	10
2.2.5.2. <i>Senecio calvus</i> Cuatrec.	12
2.2.5.3. <i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera.	13
2.2.6. Aceites esenciales.	14
2.2.6.1. Extracción de aceites esenciales.	14
2.2.6.2. Importancia en la salud.	15
2.2.7. Radicales libres.	15
2.2.8. Antioxidantes.	16
2.2.9. Actividad antimicrobiana.	17

<b>III.</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>18</b>
<b>3.1.</b>	<b>Materiales, reactivos y equipos.</b>	<b>18</b>
3.1.1.	Materiales.	18
3.1.2.	Reactivos.	19
3.1.3.	Equipos.	19
<b>3.2.</b>	<b>Metodología.</b>	<b>21</b>
3.2.1.	Recolección de las especies del estudio.	21
3.2.2.	Estabilización de las muestras.	22
3.2.3.	Clasificación taxonómica de las especies.	22
3.2.4.	Extracción de los aceites esenciales.	22
3.2.5.	Rendimiento de los aceites esenciales.	22
3.2.6.	Análisis fisicoquímico de los aceites esenciales.	23
3.2.7.	Determinación de la composición química de los aceites esenciales.	23
3.2.8.	Determinación de la actividad Antioxidante.	24
3.2.9.	Análisis estadístico de la actividad antioxidante.	27
3.2.10.	Evaluación de la actividad Antimicrobiana	28
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>33</b>
<b>V.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>53</b>
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>60</b>
<b>VII.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>61</b>
<b>VIII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>62</b>
<b>IX.</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>73</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Plantas medicinales seleccionadas y datos de recolección.	21
<b>Tabla 2.</b>	Concentraciones preparadas de los aceites esenciales estudiados.	26
<b>Tabla 3.</b>	Diseño de la bandeja de Microdilución colorimétrica.	31
<b>Tabla 4.</b>	Análisis fisicoquímico y propiedades físicas de los aceites esenciales.	33
<b>Tabla 5.</b>	Elucidación estructural de los componentes del aceite esencial de <i>Senecio nutans</i> Sch. Bip “Wiskataya” por el método CG/EM.	35
<b>Tabla 6.</b>	Elucidación estructural de los componentes del aceite esencial de <i>Senecio calvus</i> Cuatrec “Huamanripa” por el método CG/EM.	37
<b>Tabla 7.</b>	Elucidación estructural de los componentes del aceite esencial de <i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera “Remilla” por el método CG/EM.	39
<b>Tabla 8.</b>	Capacidad antioxidante (% Inhibición) del AE de <i>Senecio nutans</i> Sch. Bip. frente al radical DPPH.	41
<b>Tabla 9.</b>	Capacidad antioxidante (% Inhibición) del AE de <i>Senecio calvus</i> Cuatrec frente al radical DPPH.	42
<b>Tabla 10.</b>	Capacidad antioxidante (% Inhibición) del AE de <i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera frente al radical DPPH.	43
<b>Tabla 11.</b>	Resultados de la actividad antioxidante del Trolox® por el método DPPH.	44

<b>Tabla 12.</b>	Resultados estadísticos de la prueba de Análisis de varianza (ANOVA) para el AE de <i>Senecio nutans</i> Sch. Bip “Wiskataya”	45
<b>Tabla 13.</b>	Resultados estadísticos de la prueba de Análisis de varianza (ANOVA) para el AE de <i>Senecio calvus</i> Cuatrec “Huamanripa”	45
<b>Tabla 14.</b>	Resultados estadísticos de la prueba de Análisis de varianza (ANOVA) para el AE de <i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera “Remilla”	46
<b>Tabla 15.</b>	Valores de la Concentración mínima inhibitoria de los tres aceites esenciales sobre cuatro microorganismos.	47
<b>Tabla 16.</b>	Prueba de Tukey-Comparaciones múltiples (AE de <i>Senecio nutans</i> Sch. Bip “Wiskataya”)	85
<b>Tabla 17.</b>	Análisis descriptivo: Intervalos generales de confianza al 95% (AE de <i>Senecio nutans</i> Sch. Bip “Wiskataya”)	86
<b>Tabla 18.</b>	Prueba de Tukey-Comparaciones múltiples (AE de <i>Senecio calvus</i> Cuatrec “Huamanripa”)	87
<b>Tabla 19.</b>	Análisis descriptivo: Intervalos generales de confianza al 95% (AE de <i>Senecio calvus</i> Cuatrec “Huamanripa”)	88
<b>Tabla 20.</b>	Prueba de Tukey-Comparaciones múltiples (AE de <i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera “Remilla”)	89
<b>Tabla 21.</b>	Análisis descriptivo: Intervalos generales de confianza al 95% (AE de <i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera “Remilla”)	90

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Reacción química entre el radical DPPH y la especie antioxidante	24
<b>Figura 2.</b>	Mecanismo de reacción química entre el radical DPPH y la especie antioxidante (Trolox®)	25
<b>Figura 3.</b>	Reducción de la resazurina (azul púrpura) a resofurina (rosa-incoloro)	28
<b>Figura 4.</b>	Diagrama de flujo de la parte experimental de la determinación de la Actividad antimicrobiana, antioxidante <i>in vitro</i> y determinación de la composición química de tres aceites esenciales del género <i>Senecio</i> del Perú.	32
<b>Figura 5.</b>	Cromatograma de gas del aceite esencial de <i>Senecio nutans</i> Sch. Bip “Wiskataya”	34
<b>Figura 6.</b>	Cromatograma de gas del aceite esencial de <i>Senecio calvus</i> Cuatrec “Huamanripa”	36
<b>Figura 7.</b>	Cromatograma de gas del aceite esencial de <i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera “Remilla”	38
<b>Figura 8.</b>	Marcadores químicos entre los componentes elucidados	40
<b>Figura 9.</b>	Curva de captación de DPPH del aceite esencial de “Wiskataya”	41
<b>Figura 10.</b>	Curva de captación de DPPH del aceite esencial de “Huamanripa”	42
<b>Figura 11.</b>	Curva de captación de DPPH del aceite esencial de “Remilla”	43

<b>Figura 12.</b>	Curva de captación de DPPH del Trolox®	44
<b>Figura 13.</b>	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los aceites esenciales por el método de Microdilución colorimétrica frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	48
<b>Figura 14.</b>	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los aceites esenciales por el método de Microdilución colorimétrica frente a <i>Bacillus subtilis</i> -ambiental.	49
<b>Figura 15.</b>	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los Aceites esenciales por el método de Microdilución colorimétrica frente a <i>Escherichia coli</i> - cepa clínica.	50
<b>Figura 16.</b>	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los aceites esenciales por el método de Microdilución colorimétrica frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.	51
<b>Figura 17.</b>	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del control Ciprofloxacino por el método de microdilución colorimétrica contra cuatro microorganismos.	52
<b>Figura 18.</b>	Constancia de identificación de <i>Senecio nutans</i> Sch. Bip.	73
<b>Figura 19.</b>	Constancia de identificación de <i>Senecio calvus</i> Cuatrec.	74
<b>Figura 20.</b>	Constancia de identificación de <i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera.	75
<b>Figura 21.</b>	Elucidación del componente 1-isopropil- 4-metil biciclo [3.1.0] hexano en AE de <i>Senecio nutans</i> Sch. Bip.	76
<b>Figura 22.</b>	Elucidación del componente $\gamma$ -terpineno en AE de <i>Senecio nutans</i> Sch. Bip.	77

<b>Figura 23.</b>	Elucidación del componente 1-isopropil- 4-metil biciclo [3.1.0] hexano en AE de <i>Senecio calvus</i> Cuatrec.	78
<b>Figura 24.</b>	Elucidación del componente $\gamma$ -terpineno en AE de <i>Senecio calvus</i> Cuatrec.	79
<b>Figura 25.</b>	Elucidación del componente $\alpha$ -Pino en AE de <i>Senecio calvus</i> Cuatrec.	80
<b>Figura 26.</b>	Elucidación del componente $\gamma$ –Murolo en AE de <i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera.	81
<b>Figura 27.</b>	Elucidación del componente $\beta$ -Ocimeno en AE de <i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera.	82
<b>Figura 28.</b>	Elucidación del componente $\gamma$ -terpineno en AE de <i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera.	83
<b>Figura 29.</b>	Elucidación del componente 1-isopropil- 4-metil biciclo [3,1,0] hexano en AE de <i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera.	84

## ACRÓNIMOS

**AE:** Aceite esencial.

**RL:** Radical libre.

**ERO:** Especies Reactivas de Oxígeno.

**ERN:** Especies Reactivas de Nitrógeno.

**CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria.

**DPPH:** Radical libre 2,2 difenil-picrilhidrazilo.

**IC<sub>50</sub>:** Concentración mínima que en la que se neutraliza el 50% de los radicales libres del DPPH.

**CG:** Cromatografía de Gases.

**CG/EM:** Cromatografía de Gases acoplado a espectrometría de masas.

**TR:** Tiempo de Retención.

**TROLOX®:** Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico.

**CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute.

**%RAE:** Porcentaje de rendimiento de los aceites esenciales.

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana, antioxidante *in vitro* y determinar la composición química de los aceites esenciales de *Senecio nutans* Sch. Bip (Wiskataya), *Senecio calvus* Cuatrec (Huamanripa) y *Senecio chiquianensis* Cabrera (Remilla). Los aceites esenciales fueron obtenidos de las partes aéreas por el método de destilación por arrastre de vapor de agua, posteriormente se determinaron sus propiedades físicas. Las muestras fueron sometidos a la determinación de la composición química mediante Cromatografía de Gases /Espectrometría de Masas (CG/EM). La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de microdilución colorimétrica y se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). Se evaluó la actividad antioxidante mediante el método de captación del radical 2,2-difeneil-1-picril-hidrazilo (DPPH). Los rendimientos obtenidos para los aceites esenciales de *S. nutans* Sch. Bip, *S. calvus* Cuatrec *S. chiquianensis* Cabrera fueron 0,97, 0,42 y 0,03% respectivamente. El análisis de CG/EM reveló que los hidrocarburos monoterpenos fueron los componentes mayoritarios, seguidos de los sesquiterpenos. Por el método de microdilución, los aceites esenciales estudiados presentaron actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Bacillus subtilis* ambiental y escasa actividad frente *Escherichia coli* cepa clínica y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. En el análisis de DPPH, se obtuvo un IC<sub>50</sub> de 11,06 mg/mL para el aceite esencial de *Senecio nutans* Sch. Bip, un IC<sub>50</sub> de 8,85 mg/mL para *Senecio calvus* Cuatrec y un IC<sub>50</sub> de 4,205 mg/mL para *Senecio chiquianensis* Cabrera, valores que exhiben capacidad antioxidante como donadores de electrones al radical DPPH menor que la sustancia de referencia Trolox® (IC<sub>50</sub>=0,0038 mg/mL). Se concluye que los componentes químicos de los aceites esenciales de *S. nutans* Sch. Bip, *S. calvus* Cuatrec y *S. chiquianensis* Cabrera, poseen actividad antimicrobiana frente a las bacterias Gram positivas analizadas, asimismo presentan capacidad antioxidante menor que el estándar Trolox, siendo el aceite esencial de *S. chiquianensis* Cabrera (Remilla) la que evidencia un prometedor efecto natural.

**Palabras clave:** *Senecio nutans* Sch. Bip, *Senecio chiquianensis* Cabrera, *Senecio calvus* Cuatrec, aceite esencial, Cromatografía de gases/espectrometría de masas, actividad antimicrobiana, actividad antioxidante.

## SUMMARY

The present research had as objective to evaluate antimicrobial activity, antioxidant *in vitro* and determine the chemical composition of the essential oils of *Senecio nutans* Sch. Bip (Wiskataya), *Senecio calvus* Cuatrec (Huamanripa) and *Senecio chiquianensis* Cabrera (Remilla). The essential oils were obtained from the aerial parts by the steam distillation method, after which their physicochemical constants were determined. The samples were subjected to the determination of the chemical composition by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). The antimicrobial activity was evaluated by the colorimetric microdilution method and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined. The antioxidant activity was evaluated by the method of uptake of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH). The yields obtained for the essential oils of *S. nutans* Sch. Bip, *S. calvus* Cuatrec *S. chiquianensis* Cabrera were 0.97, 0.42 and 0.03% respectively. GC/MS analysis revealed that monoterpene hydrocarbons were the major components, followed by sesquiterpenes. By the microdilution method, the essential oils studied showed antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and environmental *Bacillus subtilis* and little activity against *Escherichia coli* clinical strain and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. In the DPPH analysis, an IC<sub>50</sub> of 11 was obtained, 06 mg/mL for the essential oil of *Senecio nutans* Sch. Bip, an IC<sub>50</sub> of 8.85 mg/mL for *Senecio calvus* Cuatrec and an IC<sub>50</sub> of 4.205 mg/mL for *Senecio chiquianensis* Cabrera, values that exhibit antioxidant capacity as electron donors to the DPPH radical lower than the reference substance Trolox® (IC<sub>50</sub> = 0.0038 mg / mL). It is concluded that the chemical components of the essential oils of *S. nutans* Sch. Bip, *S. calvus* Cuatrec and *S. chiquianensis* Cabrera, have antimicrobial activity against Gram positive bacteria analyzed, also have antioxidant capacity lower than the standard Trolox, being the essential oil of *S. chiquianensis* Cabrera (Remilla) which shows a promising natural effect.

**Keywords:** *Senecio nutans* Sch. Bip, *Senecio chiquianensis* Cabrera, *Senecio calvus* Cuatrec, essential oil, Gas Chromatography / Mass Spectrometry, antimicrobial activity, antioxidant activity.



## I. INTRODUCCIÓN

En nuestros días, se viene investigando ampliamente el uso de nuevas alternativas a los antibióticos tradicionales para tratar diversas enfermedades<sup>1</sup>. El Perú, es poseedor de una gran diversidad de plantas nativas, originarias de pueblos indígenas, quienes han transmitido sus conocimientos y prácticas basadas en creencias generación tras generación, con el fin de prevenir, diagnosticar o tratar diversas enfermedades<sup>2,3</sup>.

Los aceites esenciales (AE) son el producto final del metabolismo secundario de las plantas aromáticas; estos están constituidos por terpenos con actividad biológica y composición variada<sup>4</sup>. La explotación actual de los aceites esenciales como un reemplazo potencial en la terapia, representa "una nueva era de fitofármacos"; en el futuro, los aceites esenciales pueden pasar de ser uno de los agentes curativos tradicionales para convertirse en una terapia ampliamente utilizada en el dominio de la medicina moderna, industria alimentaria, cosmética, etc., de ahí su gran valor e importancia económica<sup>5,6,7</sup>.

Desde que empezaron a utilizarse los antibióticos, se viene advirtiendo que, si no se lleva a cabo un uso racional de estos potentes fármacos, los agentes patógenos pueden crear resistencia contra ellos en poco tiempo<sup>5</sup>. La estrategia ha sido continuar la búsqueda de nuevos antibióticos naturales, así como desarrollar modificaciones sintéticas de antibióticos existentes para recuperar eficacia<sup>8</sup>.

Lo expuesto, evidencia claramente la importancia del estudio de los aceites esenciales provenientes de plantas medicinales peruanas; para lo cual, luego de

un análisis etnobotánico y taxonómico fueron seleccionadas tres especies: *Senecio nutans* Sch. Bip, *Senecio calvus* Cuatrec y *Senecio chiquianensis* Cabrera, plantas que carecen de estudios en nuestro medio, bajo los enfoques que persigue la presente investigación.

Se ha evidenciado su amplio uso en la medicina tradicional, como diuréticos, reguladores del periodo menstrual, cicatrizantes, antirreumáticos, anticancerígenos, entre otros usos<sup>9</sup>. En ese sentido este trabajo busca no sólo aprovechar y revalorar la riqueza biológica de nuestro país, sino también abrir puertas, acelerar el proceso de nuevas investigaciones en el campo relacionado y dar respaldo científico al conocimiento popular.

Por lo mencionado, los objetivos planteados fueron:

### **1.1. Objetivo General.**

Determinar la actividad antimicrobiana, antioxidante y la composición química de aceites esenciales de tres plantas del género *Senecio* del Perú.

### **1.2. Objetivos específicos.**

- ✓ Extraer aceites esenciales de las partes aéreas de *Senecio nutans* Sch. Bip, *Senecio calvus* Cuatrec y *Senecio chiquianensis* Cabrera, por el método de destilación por arrastre de vapor de agua.
- ✓ Realizar la elucidación estructural mediante Cromatografía de Gases/ Espectrometría de Masas (CG/EM) de la composición de los aceites esenciales de *Senecio nutans* Sch. Bip, *Senecio calvus* Cuatrec y *Senecio chiquianensis* Cabrera.

- ✓ Determinar la actividad antioxidante *in vitro* de los aceites esenciales de las tres especies en estudio por el método de captación del radical 2,2-difeneil-1-picril-hidrazilo (DPPH).
- ✓ Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* de los aceites esenciales extraídos, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ambiental, *Escherichia coli* cepa clínica y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 por el método de microdilución colorimétrica.

### **1.3. Hipótesis**

Los componentes químicos de los aceites esenciales de *Senecio nutans* Sch. Bip, *Senecio calvus* Cuatrec y *Senecio chiquianensis* Cabrera, poseen actividad antimicrobiana y antioxidante *in vitro*.

## II. GENERALIDADES

### 2.1. Antecedentes generales.

Mostacero *et al.* (2011) registraron una clasificación sistemática e información relacionada a diversas plantas medicinales del Perú con referencia a su Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica. Con respecto al género *Senecio*, evidencian la existencia de 5 especies de este género en el Perú, tales como: *Senecio canescens* (H. B. K.) Cuatrecasas, *Senecio chionogeton* Weddell, *Senecio mathewsii* Weddell, *Senecio rudbeckiaefolius* Meyen & Walpers y *Senecio tephrosioides* Turckz<sup>9</sup>.

En otro estudio Andreani *et al.* (2015) determinaron la composición y variabilidad química del aceite esencial de *Senecio vulgaris* L. mediante el análisis de Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/EM) y Cromatografía de Gases/Detector de ionización de llama (CG-FID), recolectadas en 30 localidades de Córcega. Los compuestos principales fueron  $\alpha$ -humuleno (1; 57,3%), (E) - $\beta$ -cariofileno (2; 5,6%), terpinoleno (3; 5,3%),  $\alpha$ -curcumeno (4; 4,3%) y geranil linalol (5; 3,4%). Este estudio confirmó que existe una relación entre la naturaleza del suelo, la composición química de los aceites esenciales y características morfológicas de la planta, además proponen que el  $\alpha$ -humuleno podría ser utilizado como marcador taxonómico para la clasificación futura del género *Senecio*<sup>10</sup>.

Ochoa K. *et al.* (2012). Caracterizaron y evaluaron la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya) mediante el análisis CG/ EM y método difusión en agar en pocillos respectivamente. Sus resultados

muestran que el aceite esencial tanto de hojas y tallos poseen una actividad antibacteriana moderada frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* ATCC 29923<sup>11</sup>. En otro estudio Lopez *et al.* (2014) determinaron la composición química, actividad antibacteriana y repelente de los aceites esenciales de *Azorella trifurcata*, *Senecio pogonias* y *S. oreophyton*, revelando que las especies de *Senecio* están caracterizadas por un alto contenido de hidrocarburos monoterpenos (>90%), con  $\alpha$ -pineno como componente principal presente en los aceites esenciales de *S. pogonias* y *S. oreophyton*<sup>12</sup>.

Lone *et al.* (2014) evaluaron la actividad antioxidante y citotóxica del aceite esencial de diferentes partes de la planta de *Senecio graciliflorus* DC. obtenidos por Hidrodestilación. Sus resultados muestran una fuerte actividad antioxidante del aceite esencial de la flor, con un valor  $IC_{50}=21,6 \pm 0,6$  y  $26,0 \pm 1,0$   $\mu$ g/ml en ensayo DPPH y radical hidroxilo respectivamente. Con respecto a la actividad citotóxica, los aceites esenciales de flor y raíz ( $IC_{50} = 19,1 \pm 0,9$  y  $21,3 \pm 1,1$  g/ml) evidencian tener alta actividad contra líneas celulares de cáncer de pulmón<sup>13</sup>.

Kahriman *et al.* (2011) determinaron la composición química y la actividad antimicrobiana del aceite esencial de la flor, hoja y raíz de *Senecio pandurifolius*, donde el perfil químico revela el predominio de hidrocarburos sesquiterpenos (>40%). Los aceites esenciales tienen actividad contra las bacterias Gram positivas, *Mycobacterium* y hongos, pero no contra bacterias Gram negativas. Así mismo muestra que el aceite esencial de hojas tiene una alta actividad antimicrobiana<sup>14</sup>. Por otro lado, Arancibia *et al.* (2010) determinaron la composición química y la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de las

especies *Senecio mustersii* y *S. subpanduratus* (plantas aromáticas de la Patagonia Argentina), obtenidos por la técnica de hidrodestilación con un rendimiento de 0,81% para *S. subpanduratus* y 0,71% para *Senecio mustersii*. La especie *Senecio mustersii* presentó actividad antibacteriana frente a *S. aureus* y *Senecio subpanduratus* frente a todas las bacterias estudiadas (*S.aureus*, *E.coli* y *P. aeruginosa*). Además, su aceite esencial no presentó actividad antifúngica, mientras que *Senecio subpanduratus* presentó actividad contra algunas especies de *Candida*<sup>15</sup>.

Del Pilar M (2009) realizó el *Screening* fitoquímico, antimicrobiano y antioxidante de 7 plantas pre-andinas y del altiplano chileno, dentro de los cuales estudió 3 especies del género *Senecio* (*S. nutans* Sch. Bip, *S. adenophyllus* Meyen et Walp, *S. trifurcifolius* Hieron). Determinó que la especie *Senecio adenophyllus* presenta actividad antimicrobiana de amplio espectro contra bacterias Gram positivas y Gram negativas a excepción de las bacterias *K. pneumoniae* y *S. aviatum*; así mismo demostró que todos los extractos apolares y aceite esencial de *Senecio trifurcifolius* presenta una actividad de amplio espectro<sup>16</sup>. En otro estudio Benites *et al.* (2011). determinaron la composición química y el *Screening* antimicrobiano del aceite esencial de hojas y tallos de la especie *Senecio atacamensis*, obtenido por hidrodestilación. La identificación de los componentes químicos se realizó mediante el análisis de CG en hojas y tallos, evidenciándose  $\alpha$ -terpineno,  $\alpha$ -felandreno y *p*-cimeno como los monoterpenos más abundantes. Además, se ensayó el aceite para determinar su actividad antimicrobiana, exhibiendo una inhibición moderada de bacterias patógenas humanas<sup>17</sup>.

Kenoufi *et al.* (2017). identificaron la composición química, actividad antimicrobiana del aceite esencial y número de cromosoma de *Senecio jacobaea* L. de Argelia. Este aceite se caracterizó por la presencia de pentanol-3-metilo (25,70%), seguido de ciclopentanodiona-3-metil-1,2 (22,83%) y fitol (3,15%). Los hidrocarburos y alcoholes representan el 56% del aceite de *S. jacobaea*. El aceite esencial, probado en 5 cepas bacterianas y levadura, mostró una actividad antimicrobiana relativamente moderada contra todas las bacterias ensayadas. La población de *S. jacobaea* evidenció un número de cromosoma de tetraploide,  $2n = 4x = 40$ , con un número cromosómico básico  $x = 10^{18}$ .

## **2.2. MARCO TEÓRICO**

### **2.2.1. Plantas Medicinales**

Son vegetales que tienen la capacidad de elaborar unos productos llamados “principios activos”, estos compuestos ejercen una acción farmacológica sobre un organismo vivo, pudiendo ser beneficiosa o perjudicial<sup>19</sup>. Estos principios activos se encuentran desigualmente concentrados en los órganos aprovechables de las plantas, a las que se denominan “drogas vegetales”.

La parte más empleada de la planta es la hoja, aquí se llevan a cabo todas las síntesis químicas vegetales, produce los heterósidos y gran parte de los alcaloides; muchas veces los principios activos pueden estar contenidos además en el tallo, especialmente en la corteza y parte situado entre el corazón y la corteza, por lo que algunas veces el tallo tiene aplicaciones terapéuticas. Otro

órgano vegetal bastante usado es la flor, muy valorada en la fitoterapia, cargada a veces de principios activos<sup>20</sup>.

Las plantas medicinales y aromáticas forman parte de la historia del hombre. En la actualidad, aproximadamente el 80% de la población mundial acude a la medicina tradicional para tratar diversas enfermedades<sup>20</sup>.

### **2.2.2. Plantas aromáticas**

Son aquellas que por procesos fisicoquímicos biosintetizan y liberan sustancias aromáticas volátiles<sup>17</sup>, dicho de otra forma, representan a las plantas medicinales cuyos principios activos se constituyen, total o parcialmente, por esencias<sup>19</sup>.

La sola presencia de una mínima concentración de aceite esencial condiciona que una planta sea aromática, además estas plantas pueden tener cientos de componentes químicos de tipo terpenoide y/o fenilpropanoide<sup>21</sup>.

### **2.2.3. Familia Asteraceae**

Esta familia se caracteriza por presentar las flores dispuestas en una inflorescencia compuesta, denominada capítulo, la cual se halla rodeada de una o más filas de brácteas (involucro). El calificativo “Asteraceae” deriva del género de la familia Aster, a su vez este término proviene del griego ἀστήρ que significa “estrella” y hace referencia a la forma de la inflorescencia. Los miembros de esta familia se distribuyen ampliamente desde las regiones polares hasta los trópicos, conquistando así todos los hábitats disponibles<sup>22</sup>.



Muchas especies contienen látex y también aceites esenciales, además pueden o no ser resinosas. Las hojas en general están muy bien desarrolladas, en algunos casos se hayan bien reducidas. En general pueden ser anuales, bienales o perennes, no son plantas suculentas<sup>23</sup>.

En el Perú, una de las familias vegetales con mayor riqueza de especies aromáticas son las Asteraceae (*Tagetes*, *Senecio*, *Baccharis*, etc).

#### **2.2.4. Género *Senecio***

Dentro de las Angiospermas, el género *Senecio* (Asteraceae) es considerado como uno de los más ricos en especies, teniendo distribuidas alrededor del mundo 1500 especies en regiones frías y tropicales, especialmente en Europa, África, América Central y del Sur<sup>17</sup>. Este género representa una gran fuente de alcaloides pirrolizidínicos o alcaloides hepatotóxicos como la fucsina y rutina, alcaloides que evidencian propiedades semejantes a la atropina, siendo aplicadas con el mismo fin en la medicina<sup>23</sup>.

En el Perú se registran 230 especies, situadas entre 500 y 4700 msnm, ocupando así distintos ambientes ecológicos, desde la costa desértica, lomas, matorrales xerofíticos, valles interandinos hasta la puna, en el límite de la vegetación. Gran número de estas especies son consideradas como endémicas, ya que presentan distribución restringida<sup>24, 25</sup>.

Registros posteriores y descripciones de especies nuevas están contribuyendo a incrementar la riqueza de *Senecio* para el Perú.

## 2.2.5. Plantas Medicinales en estudio.

### 2.2.5.1. *Senecio nutans* Sch. Bip.

#### Clasificación Taxonómica:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GÉNERO	:	<i>Senecio</i>
ESPECIE	:	<i>Senecio nutans</i> Sch. Bip

**Sinónimos:** *Senecio graveolens* Wedd., *Senecio graveolens* var. *graveolens*, *Senecio graveolens* var. *Psiloachaenius* Cabrera, *Senecio psychrophilus* Wedd<sup>26</sup>.

**Nombres comunes:** “Wiskataya”, “Chachacoma”.

**Descripción:** **Arbusto** aromático, perennifolio de 30 - 50 cm, Ramas densamente hojosas. **Hojas** alternas, lineares-lanceoladas, suculentas, pequeñas, algo alargadas, de 2 - 5 mm x 1 - 2 mm, sésiles, comprimidas sobre el tallo, de borde lobulado a manera de 5 dedos carnosos e involutos. **Capítulos** axilares, de 10 x 5 mm, cortamente pedunculados, con dos bracteolas alternas. Calículo formado por 9 brácteas dispuestas en dos verticilos: el externo con 4 y el interior con 5.

Involucro formado por 7 - 9 brácteas lanceoladas de 6,5 mm. **Flores** amarillas o amarillo-rojizas, tubulosas, pentadentadas, hermafroditas, actinomorfas, con cáliz plumoso, de color blanco; estambres con anteras unidas; ovario ínfero y estilo dividido en dos ramas. **Fruto**, un aquenio glabro. Florece en cualquier época del año, preferentemente en invierno y primavera. Crece en suelos arenosos y arcillosos de laderas de cerros, bordes de la carretera<sup>16, 27</sup>.

**Distribución geográfica:** Planta altoandina, desde el centro del Perú hasta norte de Argentina. En Áncash, Lima, Junín, Huancavelica, Ayacucho, Moquegua, Arequipa, Tacna y Puno, entre los 3000 y 4500 msnm<sup>24</sup>. En Lima ha sido registrada en las provincias de Cajatambo, Canta, Huarochirí y Yauyos. Se halla distribuida también en Bolivia (La Paz, Oruro, Potosí), Argentina (Catamarca, Jujuy, La Rioja, Salta, Tucumán), Chile (Tarapacá, Antofagasta)<sup>26</sup>.

**Usos de la especie:** Las infusiones de hojas y flores, a menudo en combinación con hojas de coca son utilizadas en los andes como remedio para el mal de altura (soroche). Además, la infusión se utiliza como fármaco de alivio del dolor de cabeza, dolores estomacales, en mate (hojas y ramas) para la fiebre, tos y resfriado fuerte. Sus hojas se mezclan con otras pomadas (alcanforadas) para dolores<sup>16, 27</sup>.

#### 2.2.5.2. *Senecio calvus* Cuatrec.

##### Clasificación Taxonómica:

<b>DIVISIÓN</b>	:	MAGNOLIOPHYTA
<b>CLASE</b>	:	MAGNOLIOPSIDA
<b>SUBCLASE</b>	:	ASTERIDAE
<b>ORDEN</b>	:	ASTERALES
<b>FAMILIA</b>	:	ASTERACEAE
<b>GÉNERO</b>	:	<i>Senecio</i>
<b>ESPECIE</b>	:	<b><i>Senecio calvus</i></b> Cuatrec

**Sinónimos:** *Senecio graveolens* Wedd., *Senecio graveolens* var. *graveolens*, *Senecio graveolens* var. *psiloachaenius* Cabrera, *Senecio psychrophilus* Wedd<sup>26</sup>.

**Nombres comunes:** “huamanripa”, “huamanripa verdadera”, “huamanlipa”, “huaman hembra”

**Descripción:** Arbusto de hojas lanceoladas-lineales con flores amarillas o blancas con una altura media de aproximadamente 30 cm<sup>28</sup>.

**Distribución geográfica:** Endémica del Perú, se halla principalmente en Ancash, en Lima se puede recolectar en Canta, entre los 3500 a 4500 msnm<sup>24,26</sup>.

**Usos de la especie:** Su empleo está relacionado especialmente como antitusígeno y en general problemas respiratorios en forma de infusión, además

las plantas son utilizadas también como antiinflamatorios, antimicrobianos y analgésicos<sup>28</sup>.

#### **2.2.5.3. *Senecio chiquianensis* Cabrera.**

##### **Clasificación Taxonómica**

<b>DIVISIÓN</b>	:	MAGNOLIOPHYTA
<b>CLASE</b>	:	MAGNOLIOPSIDA
<b>SUB CLASE</b>	:	ASTERIDAE
<b>ORDEN</b>	:	ASTERALES
<b>FAMILIA</b>	:	ASTERACEAE
<b>GÉNERO</b>	:	<i>Senecio</i>
<b>ESPECIE</b>	:	<i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera

**Sinónimos:** *Senecio chiquianensis* var. *chiquianensis*.

**Nombres comunes:** “remilla”

**Descripción:** Plantas herbáceas de flor amarilla con hojas alternas, pinnadas lobuladas.

**Distribución geográfica:** Perú, en Cajamarca a 2750 msnm, en Ancash a 3850 ± 50msnm, en La Libertad a 2800 msnm, en Ayacucho a 3 3350 ± 50msnm a Colombia.

**Usos de la especie:** En la medicina popular es empleado bajo distintas formas de preparación, tales como infusiones, decocciones y cataplasmas para tratar trastornos renales y úlceras<sup>25</sup>.

#### **2.2.6. Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos orgánicos procedentes del metabolismo vegetal, generalmente terpenos. Se clasifican en base a su consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios<sup>21, 29</sup>.

De acuerdo a su consistencia se clasifican en Esencias fluidas (líquidos volátiles a temperatura ambiente), bálsamos (más espesos y poco volátiles) y oleorresinas (líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas). De acuerdo a su origen pueden ser naturales (no sufren modificaciones químicas y físicas), semisintéticas o artificiales y sintéticos. De acuerdo a su naturaleza química, se clasifican en aceites esenciales monoterpénicos, sesquiterpénicos y fenilpropánicos<sup>21</sup>.

##### **2.2.6.1. Extracción de aceites esenciales**

El proceso de obtención de aceites esenciales dependerá de la morfología de la especie vegetal, variedad de la especie y porcentaje de rendimiento. Entre los métodos de extracción de aceites esenciales destacan los siguientes: Destilación con vapor de agua, columna de destilación discontinua, hidrodestilación con arrastre de vapor de agua a presión y temperatura controlada, extracción por fluidos supercríticos, extracción por expresión y extracción con solventes orgánicos<sup>29,30</sup>.

#### **2.2.6.2. Importancia en la Salud.**

El uso de plantas aromáticas medicinales se ha ido incrementando cada vez más, aproximadamente el 60% de la población mundial depende de plantas medicinales para su atención primaria, tal es así que el interés en la Fitomedicina se ha renovado desde la última década<sup>31</sup>.

Los aceites esenciales y sus componentes volátiles se utilizan ampliamente en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades humanas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares incluyendo aterosclerosis y trombosis, así como su bioactividad como agentes antibacterianos, antivirales, antioxidantes y antidiabéticos<sup>32</sup>.

#### **2.2.7. Radicales libres.**

Un radical libre es aquel átomo o molécula que tiene en su estructura uno o más electrones desapareados. Es altamente reactiva y capaz de generar radicales libres en cadena, además por tener una vida media de microsegundos, ocurre una rápida propagación con moléculas aledañas y mayor daño potencial<sup>33-35</sup>.

Los radicales libres que provienen del oxígeno se les denomina más propiamente “especies reactivas de oxígeno” (ERO), para diferenciarlos de las “especies reactivas de nitrógeno” (ERN), que comprenden al óxido nítrico y al dióxido nítrico<sup>36</sup>. La disminución en la actividad de las enzimas de las defensas antioxidantes es causada por el incremento de las ERO y ERN. Los radicales libres en concentraciones normales no son perjudiciales para nuestro organismo,

ya que incluso participan en diversos procesos fisiológicos que son benéficos para el medio celular. No obstante, cuando las defensas antioxidantes se ven superadas por estas especies reactivas, nuestras células se ven comprometidas por el estrés oxidante afectando indiscriminadamente a diversas biomoléculas y ocasionando, por ejemplo, mutaciones en el DNA, oxidación de moléculas de glucosa, peroxidación lipídica, que respectivamente, están relacionadas con enfermedades crónico degenerativas como cáncer, diabetes y diversas patologías cardiovasculares (cardiopatías)<sup>37-39</sup>.

Sin embargo, gracias a los compuestos antioxidantes se puede revertir o interrumpir las reacciones de transformación que producen daños a las biomoléculas.

#### **2.2.8. Antioxidantes.**

Los antioxidantes son sustancias que neutralizan los radicales libres y/o sus efectos. Su principal función es la de actuar como un donador de electrones, capaz de prevenir una reacción en cadena de óxido-reducción o sacrificar su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas como lípidos, proteínas, ADN, etc<sup>40</sup>.

En la célula existen mecanismos protectores adecuados contra cualquier efecto nocivo de los radicales libres: superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, tioredoxina, tioles y enlaces disulfuro. El  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E) es un nutriente esencial que funciona como un antioxidante que rompe las cadenas y que impide la propagación de reacciones de radicales libres en todas las membranas celulares del cuerpo humano. El ácido ascórbico (vitamina C)



también forma parte del mecanismo de protección normal. Otros antioxidantes no enzimáticos incluyen carotenoides, flavonoides, tocoferoles, tocotrienoles, polifenoles relacionados, ácido  $\alpha$ -lipoico, glutatión, etc<sup>39,41-43</sup>.

#### **2.2.9. Actividad antimicrobiana.**

La evaluación de la actividad antimicrobiana hace unas décadas eran inconsistentes, no contaban con métodos estandarizados o eran muy poco reproducibles ya que muchos factores repercutían en el resultado de éstos, como el tamaño del inóculo, la composición y el pH del medio, la temperatura y duración de la incubación, etc<sup>45,46</sup>.

El Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico (National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS), actualmente el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) durante más de 40 años ha desarrollado y promovido el uso de guías de prácticas clínicas y de laboratorio manteniendo los estándares e impulsando las prácticas de calidad<sup>47</sup>.

### III. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

##### 3.1.1. Materiales.

- Pipetas de vidrio 2 mL, 5 mL y 10 mL.
- Pera de decantación Isolab 100 mL.
- Matraz Erlenmeyer de 100mL y 250 mL.
- Fiolas de vidrio de 5mL, 10 mL, 25 mL, 50 mL y 100mL.
- Frascos ámbar de vidrio 10 mL, 20 mL. Y 50 mL.
- Tips de 100  $\mu$ L y 1000  $\mu$ L.
- Placas Petri de plástico 15 x 100 mm.
- Tubos de ensayo de vidrio.
- Baguetas de vidrio.
- Micropipetas (Eppendorf).
- Micropipeta multicanal (Eppendorf).
- Microplaca estéril de polipropileno de 96 pocillos con fondo en U (Brand).
- Viales de vidrio.
- Cubeta espectrofotométrica.

##### **Material Vegetal.**

- *Senecio nutans* Sch. Bip.
- *Senecio calvus* Cuatrec.
- *Senecio chiquianensis* Cabrera.

## **Microorganismos de ensayo**

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- *Bacillus subtilis* - cepa ambiental.
- *Escherichia coli* - cepa clínica.
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

## **Medios de Cultivo**

- Caldo Mueller Hinton (Merck).
- Agar Mueller Hinton (Merck).
- Agar Tripticasa Soya (Merck).

### **3.1.2. Reactivos**

- Resazurina (Sigma-Aldrich, USAI).
- Ciprofloxacino (Potencia: 94,10 %, Laboratorios Induquímica).
- Trolox®: Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico (Sigma-Aldrich, USA).
- DPPH: Ácido 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo(Sigma-Aldrich, USA).
- Metanol (J.T. Baker).
- Etanol 96° (Merck).
- n-hexano (Merck).
- Agua destilada.

### **3.1.3. Equipos**

- Autoclave (Chincan LDZX-50KBS).
- Equipo de destilación por arrastre de vapor de acero inoxidable.

- Balanza analítica (Denver XP-300).
- Estufa (Memmert).
- Picnómetro de 1mL.
- Refrigeradora (Bosch).
- Cromatógrafo de Gases/ Espectrometría De Masas (CG/EM) modelo CG: Thermo Finnigan / Trace MS plus.
- Incubadora (INCUCCELL).
- Espectrofotómetro UV-visible: GENESYS 10S UV-VIS-Thermo Scientific.
- PC con software IBM SPSS Statistics.

### **Entidades que permitieron el desarrollo de la Investigación.**

El presente trabajo de investigación se desarrolló entre los meses de agosto del 2016 a mayo del 2017. La destilación con arrastre de vapor de agua y la determinación de la actividad antioxidante de los aceites esenciales, se llevó a cabo en el Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM. La Elucidación estructural de los componentes químicos de los aceites esenciales se realizó el Instituto de Medicina Legal – Sub Gerencia de Laboratorio de Toxicología y Química Legal. El análisis de la actividad antimicrobiana se realizó en el Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología “Marco A. Garrido Malo” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

### **Tipo de estudio**

El estudio es descriptivo analítico y transversal.

## 3.2. METODOLOGÍA

### 3.2.1. Recolección de las especies del estudio.

Las plantas maduras fueron recolectadas en los departamentos de Ayacucho, Ancash y Junín durante los meses setiembre-noviembre del 2016 (tabla 1). Se eligieron estos sitios por el conocido uso de las especies por los pobladores, a su vez facilitado por búsqueda bibliográfica y por información brindada de investigadores en Etnobotánica.

Se recolectaron 20 Kg de *Senecio nutans* Sch. Bip a 3,800 msnm, 20kg de *Senecio calvus* Cuatrec a 3,500 msnm y 40kg de la especie *Senecio chiquianensis* Cabrera a 2,300 msnm, se rotularon y se transportaron por medio terrestre en envases cerrados, evitándose la humedad, en base a manuales de colección<sup>48,49</sup>.

**Tabla 1.** Plantas medicinales seleccionadas y datos de recolección.

<b>Especie</b>	<b>Familia</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Lugar de Recolección</b>	<b>Parte Usada</b>
<i>Senecio nutans</i> Sch. Bip	Asteraceae	Wiskataya	Puquio, Lucanas- Ayacucho	Partes aéreas
<i>Senecio calvus</i> Cuatrec	Asteraceae	Huamanripa	Huancayo, Huancayo – Junín	Partes aéreas
<i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera	Asteraceae	Remilla	Caraz, Huaylas - Ancash	Partes aéreas

### **3.2.2. Estabilización de las muestras.**

El material recolectado fue acondicionado y estabilizado en el Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM a temperatura ambiente y en sombra.

### **3.2.3. Clasificación taxonómica de las especies.**

Las especies *Senecio nutans* Sch. Bip, *Senecio chiquianensis* Cabrera y *Senecio calvus* Cuatrec fueron identificados por el Mg. Hamilton Beltrán Santiago en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (anexos 1-3).

### **3.2.4. Extracción de aceites esenciales.**

Para esta fase, se utilizó el método de destilación por arrastre de vapor de agua con un equipo de acero inoxidable, a partir de 10 Kg de las partes aéreas de cada especie vegetal estudiada. El destilado se separó en base a la diferencia de densidades entre el agua y los aceites esenciales, recibidos en una pera de decantación de 100mL, posteriormente se deshidrataron con sulfato de sodio anhidro, procediendo luego a filtrarlos, conservarlos y refrigerarlos (4-8 °C) en frascos ámbar herméticos<sup>29, 50</sup>.

### **3.2.5. Rendimiento de los aceites esenciales.**

El porcentaje de rendimiento de los aceites esenciales (%RAE), se determinó con el volumen de los aceites esenciales obtenidos por un sistema de destilación con arrastre de vapor de agua, estos volúmenes fueron medidos con una pera de

decantación de 100mL. El % RAE se determinó por el método gravimétrico-volumétrico con la siguiente fórmula<sup>51</sup>:

---

$$\%RAE = \text{Vol. AE (mL)} / P_{\text{muestra}}(\text{g}) \times 100$$

---

*Donde:*

Vol. AE: Volumen del aceite esencial obtenido en mililitros.

P<sub>muestra</sub>: Peso de la muestra a destilar en gramos.

### **3.2.6. Análisis fisicoquímico de los aceites esenciales.**

Se realizó el análisis organoléptico<sup>52</sup>, que consistió en la inspección visual de los aceites esenciales, solubilidad, asimismo se determinó la gravedad específica (densidad) de acuerdo al Método I descrito en la United States Pharmacopeia 38 <841><sup>53</sup>.

### **3.2.7. Determinación de la composición química de los aceites esenciales.**

El análisis se realizó en un Cromatógrafo de Gas/ Espectrómetro de Masa (CG-EM) modelo CG: Thermo Finnigan / TRACE MS plus, provisto de una columna capilar “FactorFour<sup>TM</sup> Capillary Columns”. Los aceites esenciales se disolvieron en metanol absoluto. Las condiciones utilizadas fueron: Temperatura inicial 120 °C con una duración de 1 minuto; aumentando a 12°C/min hasta 320 °C, manteniendo esta temperatura durante 10 minutos, temperatura del inyector 220 °C modo Split, volumen de muestra 1 mL. El gas transportador utilizado fue helio con un flujo de 1,25 mL/min, Interfase 250 °C y temperatura de fuente a 200 °C. El rango de masas analizadas fue 50 a 450 μm La identificación de los componentes

químicos del aceite se realizó mediante comparación computarizada de sus espectros de masa con los de la base de datos del equipo.

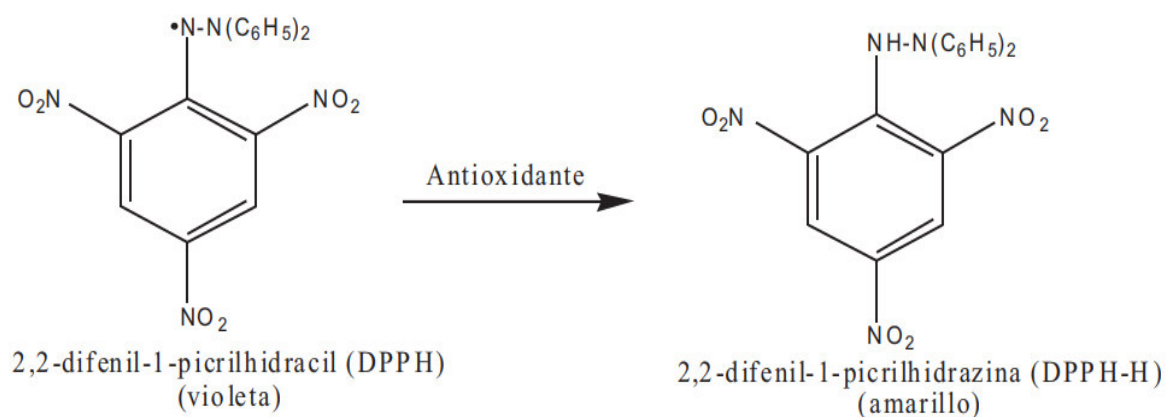
### 3.2.8. Determinación de la actividad antioxidante.

#### 3.2.8.1. Método de captación del radical 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).

##### Fundamento:

La molécula 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) es un radical libre estable con un electrón desapareado, presenta una coloración azul-violeta con absorbancia a 517 nm.

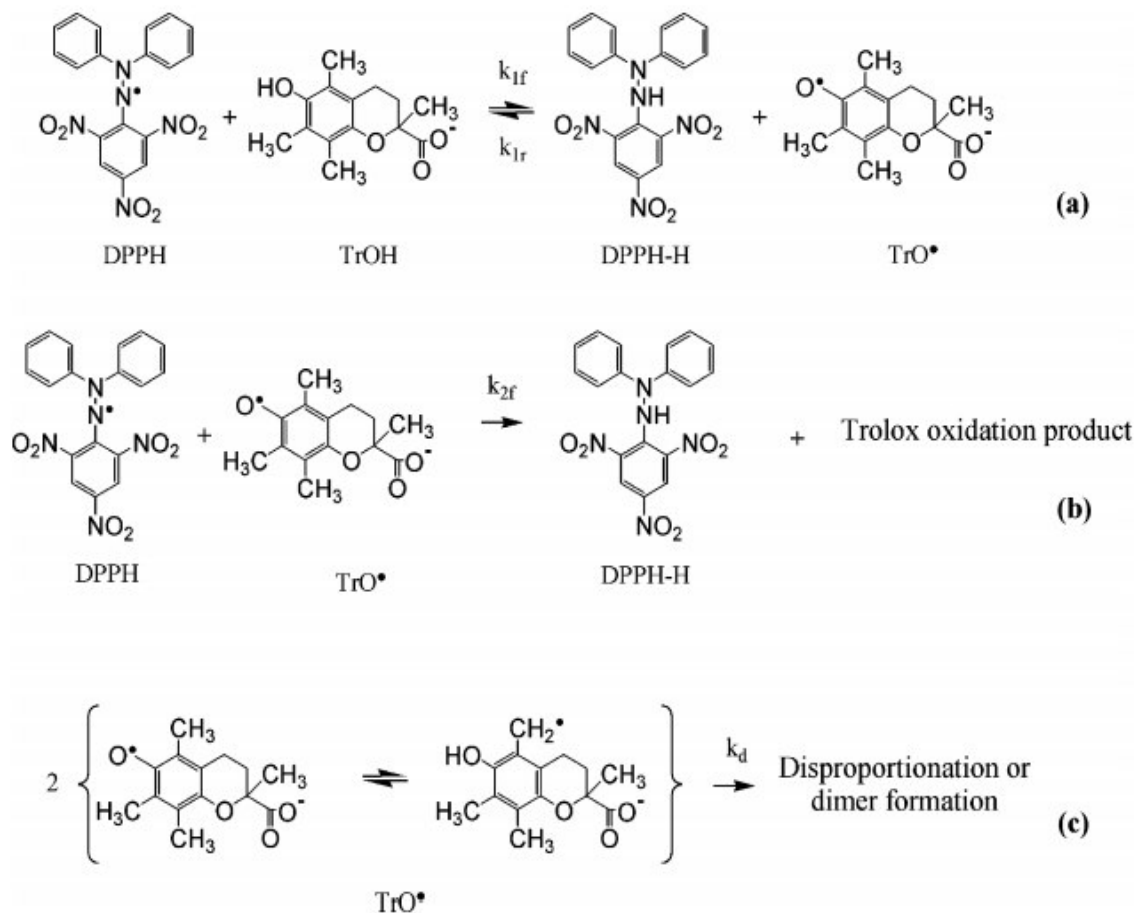
Las sustancias atrapadoras de radicales libres (donadoras de H) reaccionan con este compuesto y producen la desaparición del color hasta amarillo (figura 1). La reacción es monitoreada espectrofotométricamente evaluando la disminución de la absorbancia a 517 nm. El porcentaje de captación del radical libre DPPH se determina por diferencia de absorbancia<sup>54-57</sup>.



**Figura 1.** Reacción química entre el radical DPPH y la especie antioxidante<sup>58</sup>.



Los resultados se pueden expresar como IC<sub>50</sub>, % de inhibición, % de actividad antirradicalaria o equivalentes a Trolox® o a vitamina C (figura 2).



**Figura 2.** Mecanismo de reacción química entre el radical DPPH y la especie antioxidante (Trolox®)<sup>59</sup>.

Se emplea como sustancia de referencia de captación de DPPH al Trolox® y la muestra problema es tratada con metanol.

### 3.2.8.1.1. Preparación de la solución de DPPH.

Se preparó una solución stock de 40 mg/100 mL de 2,2-Difenil-1-picrihidracil (DPPH, Sigma) en metanol absoluto, el cual se conservó en un frasco ámbar, en refrigeración de 2-6 °C y protegido de la luz.

### 3.2.8.1.2. Procedimiento.

La solución stock DPPH fue diluida en metanol hasta obtener una absorbancia entre 0,600 – 0,700 a 517 nm. Se calibró el espectrofotómetro con un blanco conteniendo 400 µL de solvente de la muestra problema y 800 µL de metanol. Posteriormente se preparó una batería de tubos, donde se añadió 400 µL de cada muestra a diferentes concentraciones (tabla 2), finalmente se agregó 800 µL de la solución de trabajo de DPPH y agitó.

**Tabla 2.** Concentraciones preparadas de los aceites esenciales estudiadas.

Concentración del aceite esencial (µg/mL)		
AE de <i>Senecio nutans</i> Sch. Bip	AE de <i>Senecio calvus</i> Cuatrec	AE de <i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera
0	0	0
41,4	2,68	3,58
82,8	5,36	7,16
165,6	16,08	8,598

Con la batería de tubos se procedió a mezclar y dejarlos en reposo a temperatura ambiente alejados de la luz por 30 minutos, luego se midieron las absorbancias de cada tubo a 517nm. Cada aceite esencial fue medido por triplicado. Se procedió de la misma forma para la sustancia de referencia Trolox®, con los valores de absorbancia obtenidos se determinó el porcentaje de captación de radicales libres (DPPH), mediante la siguiente expresión.

$$\% \text{Inhibición} = \frac{(Abs.DPPH - Abs.muestra)}{Abs.DPPH} \times 100$$

La actividad secuestradora de radicales libres es expresada como una concentración efectiva 50% ( $IC_{50}$ ; la concentración de sustancia de prueba requerida para reducir la absorbancia de la solución blanco de DPPH en 50%).

El  $IC_{50}$  se determinó a partir de la gráfica del porcentaje de inhibición en función de la concentración y corresponde a la concentración en la que se neutraliza el 50% de los radicales libres del DPPH. Para el control positivo se preparó una curva patrón de Trolox®, a las mismas condiciones de análisis de los tres aceites esenciales, para comparar las  $IC_{50}$ .

### **3.2.9. Análisis estadístico de la actividad antioxidante.**

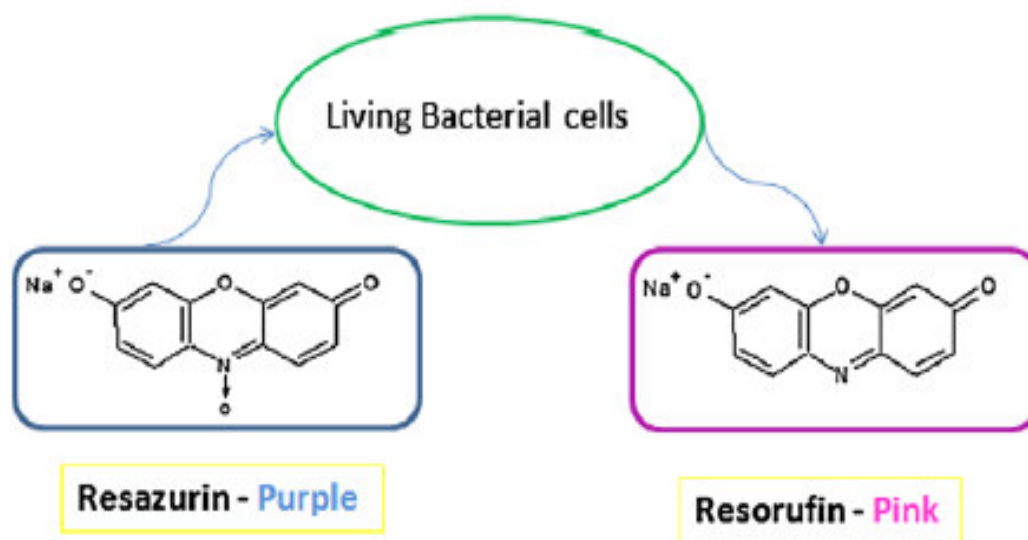
Se utilizó el modelo factorial de Análisis de Varianza (ANOVA) con la finalidad de evaluar el efecto individual y conjunto de los factores (variables independientes) que presentó la presente investigación sobre la variable dependiente cuantitativa (absorbancia de captación a 517 nm). Posteriormente para identificar diferencias estadísticamente significativas entre los factores establecidos se utilizó la prueba de Tukey al 95% de confianza, se consideraron significativos valores de  $p < 0,05^{60}$ , la cual es un tipo particular de prueba que pertenece a las comparaciones múltiples post hoc o comparaciones a posteriori, con lo cual se determinó qué media aritmética específicamente difiere de las otras medias aritméticas obtenidas, cuando se ha rechazado la hipótesis general. Estos datos se analizaron mediante el software estadístico para Windows IBM SPSS Statistics.

### 3.2.10. Evaluación de la actividad antimicrobiana.

#### 3.2.10.1. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por el método de Microdilución colorimétrico en microplaca.

##### 3.2.10.1.1. Fundamento.

Se basa en la inhibición del crecimiento bacteriano, mediante la dilución de los aceites respectivos (sustancias activas) en un medio líquido, y que se evidencia por la ausencia de crecimiento en los pozos, haciendo uso de Resazurina como indicador redox. Las células bacterianas activas reducen la Resazurina no fluorescente (azul) a Resorufina fluorescente (rosa), dando una medida cuantificable directa de la actividad metabólica bacteriana (figura 3)<sup>61</sup>.



**Figura 3.** Reducción de la resazurina (azul púrpura) a resofurina (rosa-incoloro)<sup>61</sup>.

Se realizó una prueba de microdilución cuantitativa de las muestras y control para determinar la concentración mínima capaz de inhibir el crecimiento de las

bacterias (CMI), para lo cual se siguió lo descrito en el protocolo del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio CLSI M07- A10 modificado<sup>62</sup>.

#### **3.2.10.1.2. Microorganismos de estudio.**

Para la prueba se utilizaron *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* cepa ambiental, *Escherichia coli* cepa clínica, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

#### **3.2.10.1.3. Preparación de las muestras.**

Para el método de microdilución en caldo se preparó el stock de la muestra, para lo cual se diluyó mililitros del cada aceite esencial en caldo Mueller Hinton a 1:12,5, obteniéndose así 10 diluciones doblemente concentradas finales en el rango 0,0782-20 µL/mL para los tres aceites esenciales.

#### **3.2.10.1.4. Preparación del control positivo.**

Se utilizó el Ciprofloxacino como control positivo, fue disuelto en agua y preparado a 6 400 µg/mL siguiendo las normas del CLSI a una concentración 100 veces mayor a la concentración a ser probada, en este caso 64 µg/mL, la concentración de Ciprofloxacino fue desde 0,125 a 64 µg/mL. Se utilizó como control de esterilidad el caldo Mueller Hinton con resazurina<sup>62</sup>.

#### **3.2.10.1.5. Preparación del inóculo.**

Las bacterias fueron sembradas en placas de Agar Tripticasa Soya (ATS) e incubadas a 37 °C por 24h antes de la prueba de determinación de la CMI, con el objetivo de obtener un mayor número de células viables. Para preparar el inóculo base se resuspendieron las colonias en solución salina estéril al 0,9%, ajustando

hasta obtener un grado de turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ( $1-1,5 \times 10^8$  UFC/mL). Asimismo, se realizó inmediatamente una doble dilución de 1:30 con caldo Mueller Hinton para obtener un inóculo de  $1-5 \times 10^5$  UFC/mL (inóculo 2x)<sup>63</sup>.

Para la prueba de microdilución se procedió teniendo en cuenta que por cada 10mL de la suspensión del inóculo 2x se agregó 0,05 mL de la solución de resazurina 20 mg/mL previamente preparada<sup>64</sup>.

#### **3.2.10.1.6. Procedimiento de la prueba de microdilución colorimétrica**

La prueba se desarrolló en microplacas de poliestireno de 96 pozos de fondo en U y estériles<sup>65</sup>. La distribución de las muestras se realizó en base al diseño de la bandeja de microdilución (tabla 3).

En este método se incluyeron pozos de control de crecimiento (bacterias más caldo Mueller-Hinton), de control de esterilidad (caldo Mueller-Hinton), y los de ensayo (bacterias más caldo Mueller-Hinton más antibiótico o aceite esencial). Todas las pruebas fueron hechas por triplicado. En cada pozo se colocó 100  $\mu$ L de la dilución 2x de la muestra o control correspondiente y luego se agregó 100  $\mu$ L del inóculo 2x que ya tenía incorporado la solución indicadora de resazurina. Posteriormente las microplacas fueron elevadas a incubación de 37°C por 24h<sup>63</sup>.

**Tabla 3.** Diseño de la bandeja de Microdilución colorimétrica.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
<b>A</b>	CE	40	20	10	5,0	2,5	1,25	0,625	0,3125	0,1563	0,0782	CC	<b>W</b>
<b>B</b>	CE	40	20	10	5,0	2,5	1,25	0,625	0,3125	0,1563	0,0782	CC	<b>W</b>
<b>C</b>	CE	40	20	10	5,0	2,5	1,25	0,625	0,3125	0,1563	0,0782	CC	<b>H</b>
<b>D</b>	CE	40	20	10	5,0	2,5	1,25	0,625	0,3125	0,1563	0,0782	CC	<b>H</b>
<b>E</b>	CE	40	20	10	5,0	2,5	1,25	0,625	0,3125	0,1563	0,0782	CC	<b>R</b>
<b>F</b>	CE	40	20	10	5,0	2,5	1,25	0,625	0,3125	0,1563	0,0782	CC	<b>R</b>
<b>G</b>	CE	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	CC	<b>C</b>
<b>H</b>	CE	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	CC	<b>C</b>

*Dónde:*

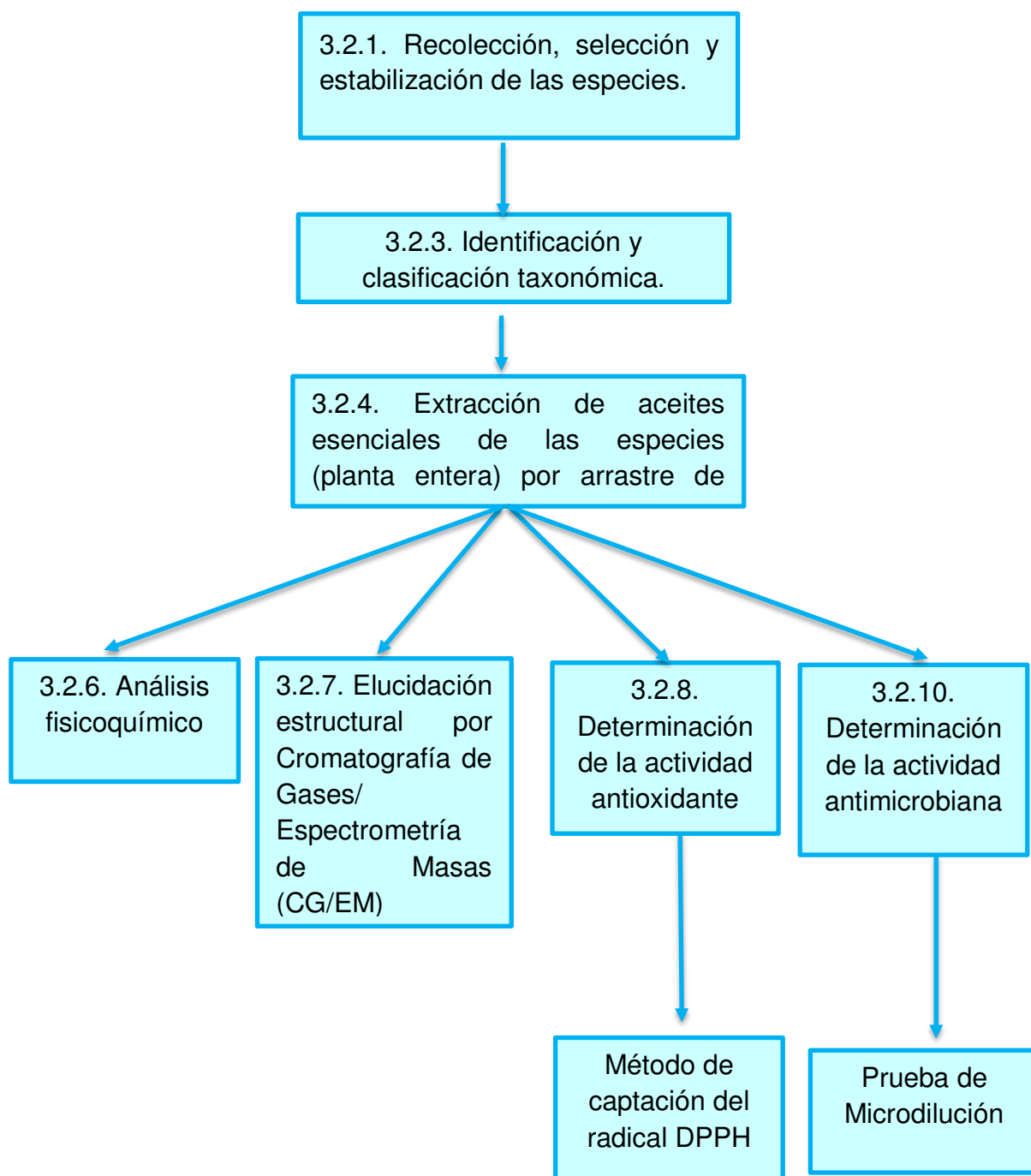
- CE: Control de esterilidad.
- CC: Control de crecimiento.
- W: Aceite esencial de *Senecio nutans* Sch. Bip. “Wiskataya”
- H: Aceite esencial de *Senecio calvus* Cuatrec. “Huamanripa”
- R: Aceite esencial de *Senecio chiquianensis* Cabrera. “Remilla”
- C: Ciprofloxacino.

### 3.2.10.1.7. Interpretación de la concentración mínima inhibitoria (CMI).

La lectura de los resultados se hizo visualmente, reportándose cualquier cambio de color de púrpura a rosado o incoloro se registraron como positivos. La concentración más baja a la que no se produjo el cambio de color se tomó como el valor de la CMI. Se calculó el promedio de tres valores y se reportó como la CMI<sup>63,66</sup>.

### 3.2.11. Análisis estadístico de la actividad antimicrobiana.

Los resultados se analizaron mediante estadística descriptiva.



**Figura 4.** Diagrama de flujo de la parte experimental de la determinación de la Actividad antimicrobiana, antioxidante *in vitro* y determinación de la composición química de tres aceites esenciales del género *Senecio* del Perú.



## IV. RESULTADOS

### 4.1. Análisis fisicoquímico de los aceites esenciales.

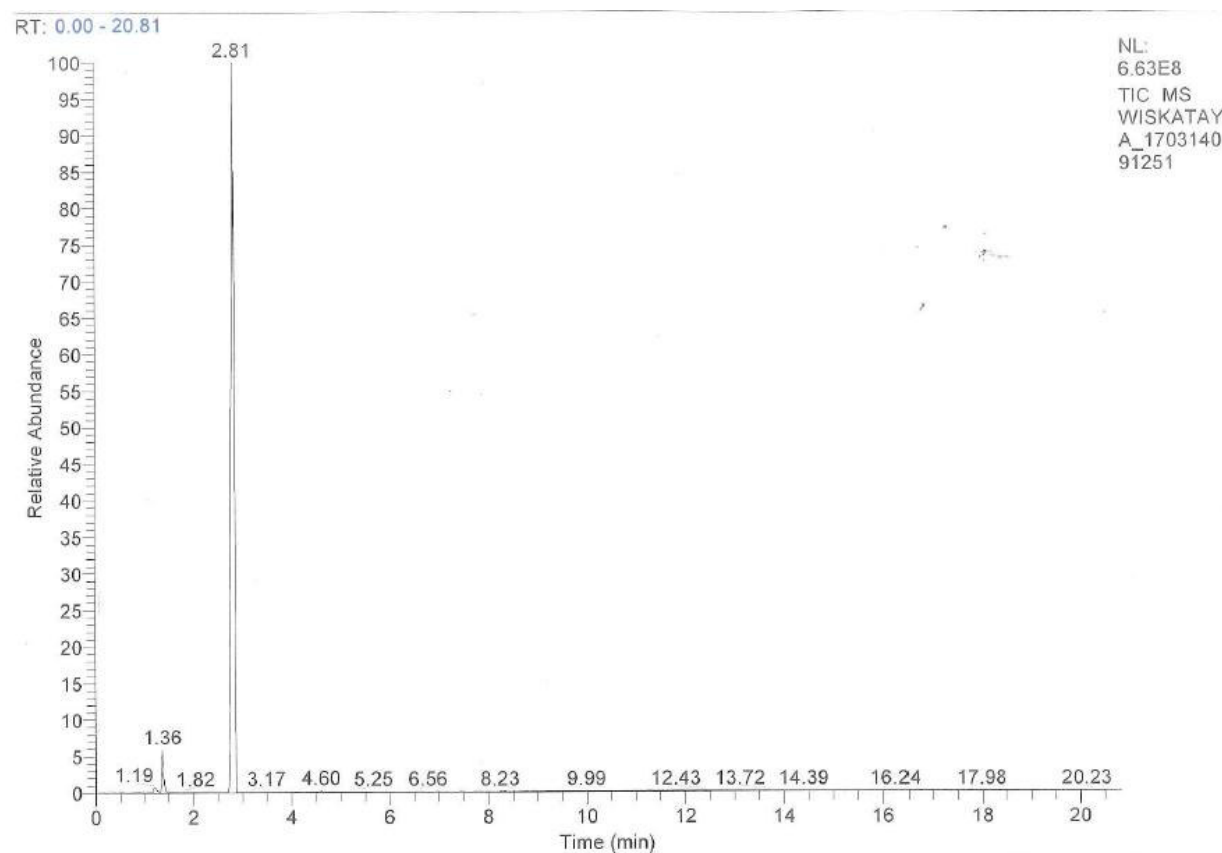
La Tabla 4 registra las características sensoriales, densidad y rendimiento de los aceites esenciales en estudio.

**Tabla 4.** Análisis fisicoquímico y propiedades físicas de los aceites esenciales.

	<i>Senecio nutans</i> Sch. Bip “Wiskataya”	<i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera “Remilla”	<i>Senecio calvus</i> Cuatrec “Huamanripa”
<b>Aspecto</b>	Líquido oleoso traslúcido	Líquido oleoso traslúcido	Líquido oleoso traslúcido
<b>Color</b>	Ligeramente amarillento	Amarillo pálido a amarillo intenso	Ligeramente amarillento
<b>Olor</b>	Intensamente aromático	Aromático	Intensamente aromático
<b>Sabor</b>	Acre	Acre	Acre
<b>Solubilidad</b>	Altamente soluble en metanol, etanol absoluto, n-hexano, insoluble en agua y en etanol 50%	Altamente soluble en metanol, etanol absoluto, n-hexano, insoluble en agua y en etanol 50%	Altamente soluble en metanol, etanol absoluto, n-hexano, insoluble en agua y en etanol 50%
<b>Densidad (25°C)</b>	0,828 g/mL	0,859 g/mL	0,804 g/mL
<b>pH</b>	8,0	6,5	5,8
<b>Rendimiento</b>	0,97%	0,03%	0,42%

#### 4.2. Determinación de la composición química de los aceites esenciales por Cromatografía de Gases /Espectrometría de Masas (CG/EM).

El análisis por CG/EM de los aceites esenciales se presenta en las figuras 5 - 7; y en las tablas 5 - 7:



**Figura 5.** Cromatograma de gas del aceite esencial de *Senecio nutans* Sch.

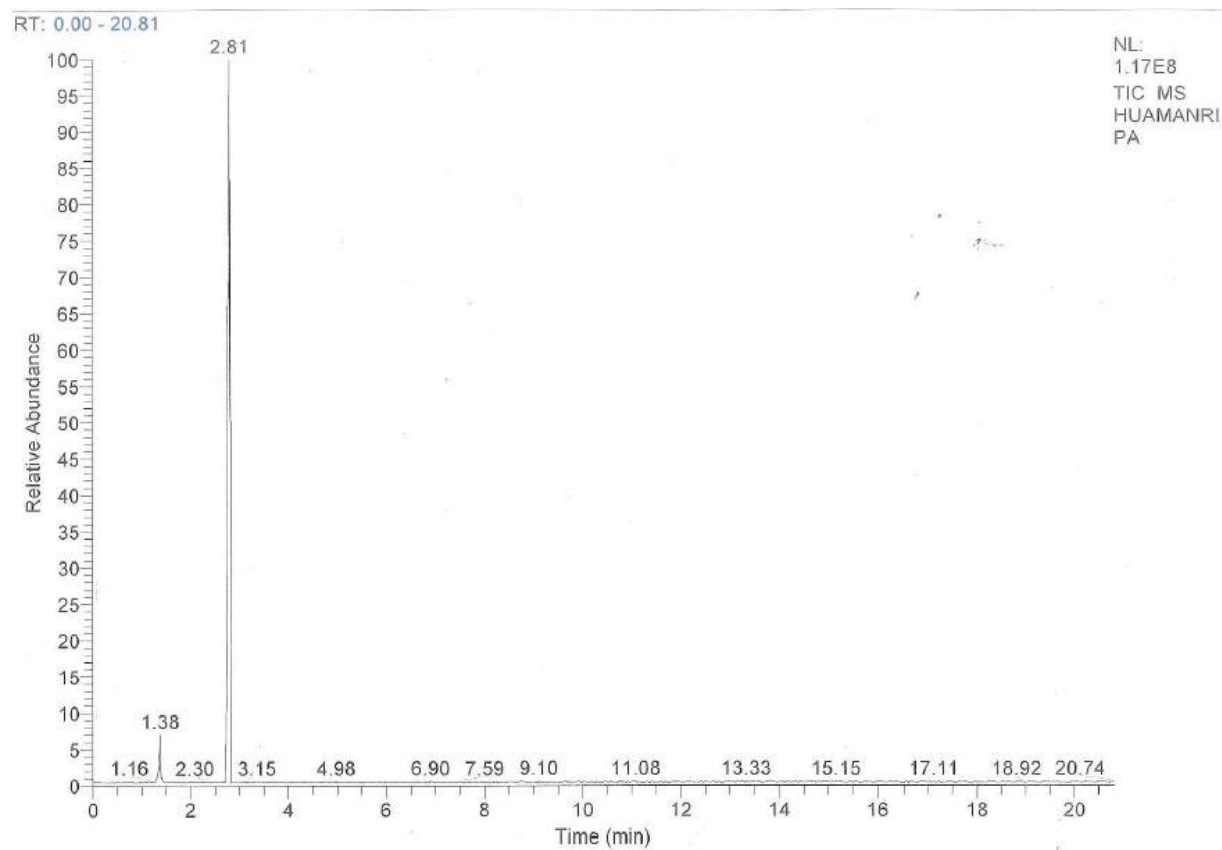
Bip "Wiskataya".

**Tabla 5.** Elucidación estructural de los componentes del aceite esencial de *Senecio nutans* Sch. Bip “Wiskataya” por el método de CG/EM.

N°	Compuesto	TR	Tipo de compuesto*
1	1-isopropil- 4-metil biciclo [3.1.0] hexano	2,81	Hidrocarburo monoterpeno
2	$\gamma$ -terpineno	0,85	Hidrocarburo monoterpeno
3	$\beta$ -pineno	1,55	Monoterpeno
4	$\beta$ -felandreno	2,11	Monoterpeno cíclico
5	Ciclohexano,1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilidene)	0,94	Hidrocarburo sesquiterpeno

**Leyenda:** TR=Tiempo de Retención: Tiempo característico que necesita cada compuesto de la mezcla química para pasar a través del sistema, bajo las condiciones establecidas.

\*Se han considerado los componentes químicos más representativos (cualitativamente) del análisis CG/EM de acuerdo a su TR.



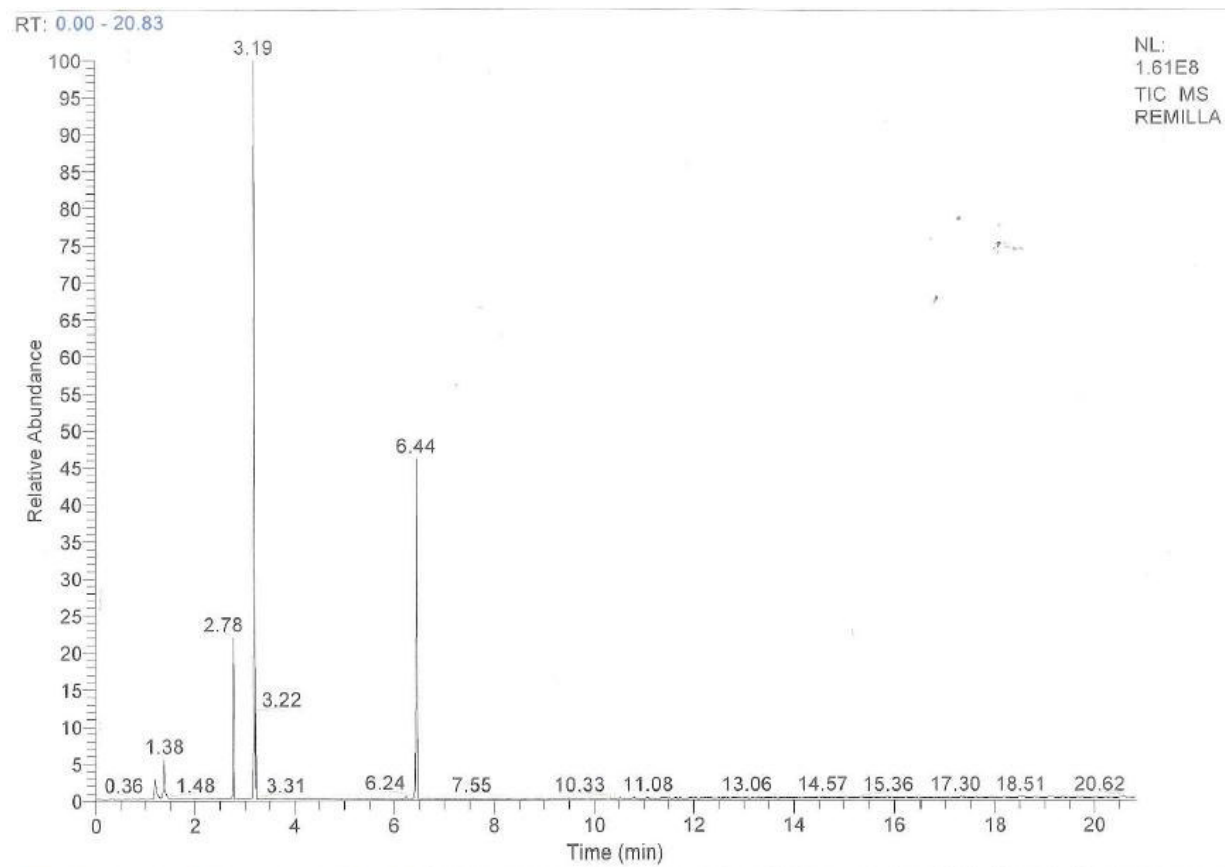
**Figura 6.** Cromatograma de gas del aceite esencial de *Senecio calvus* Cuatrec  
“Huamanripa”

**Tabla 6.** Elucidación estructural de los componentes del aceite esencial de *Senecio calvus* Cuatrec “Huamanripa” por el método de CG/EM.

N°	Compuesto	TR	Tipo de compuesto*
1	1-isopropil- 4-metil biciclo [3,1,0] hexano	0,89	Hidrocarburo monoterpeno
2	$\alpha$ -Pino	0,82	Terpeno
3	$\gamma$ -terpino	2,81	Hidrocarburo monoterpeno

**Leyenda:** TR=Tiempo de Retención: Tiempo característico que necesita cada compuesto de la mezcla química para pasar a través del sistema, bajo las condiciones establecidas.

\*Se han considerado los componentes químicos más representativos (cualitativamente) del análisis CG/EM de acuerdo a su TR.



**Figura 7.** Cromatograma de gas del aceite esencial de *Senecio chiquianensis*

Cabrera “Remilla”

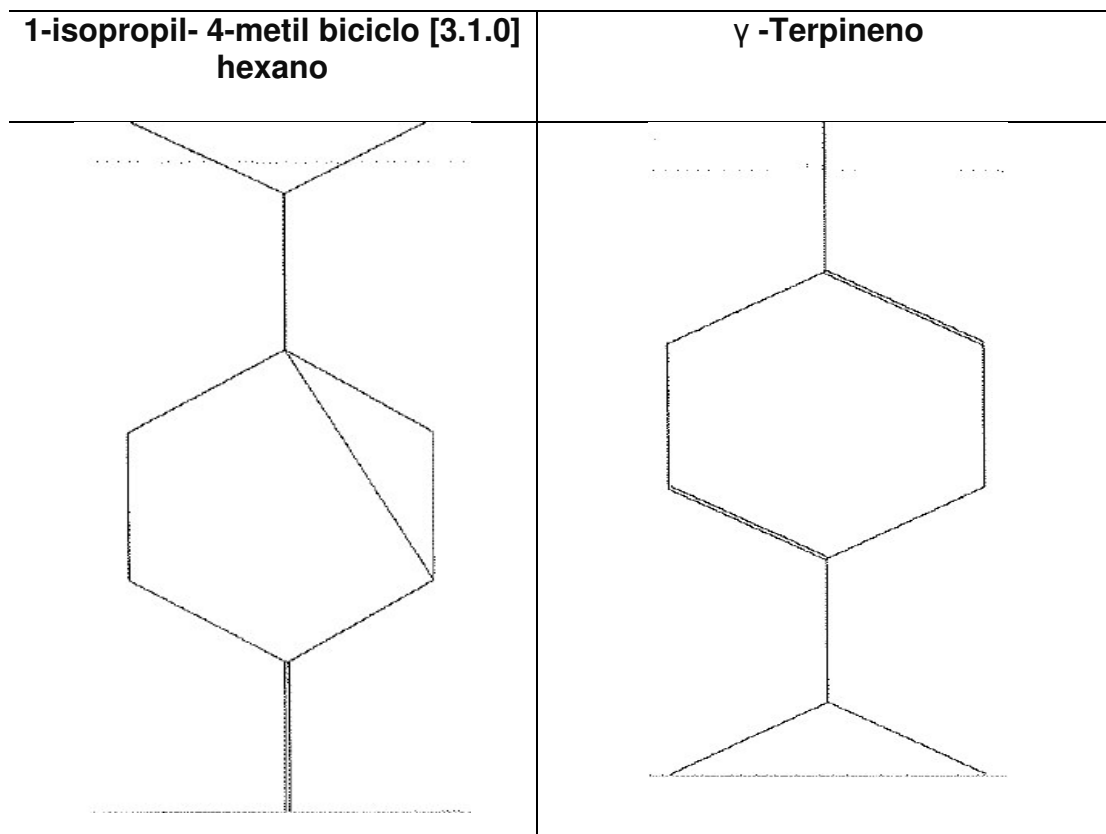
**Tabla 7.** Elucidación estructural de los componentes del aceite esencial de *Senecio chiquianensis* Cabrera “Remilla” por el método de CG/EM.

N°	Compuesto	TR	Tipo de compuesto*
1	$\gamma$ -Muroleno	6,44	Sesquiterpeno
2	$\beta$ -Ocimeno	3,22	Monoterpeno
3	$\gamma$ -terpineno	3,19	Hidrocarburo monoterpeno
4	1-isopropil- 4-metil biciclo [3,1,0] hexano	2,78	Hidrocarburo monoterpeno

**Leyenda:** RT=Tiempo de Retención: Tiempo característico que necesita cada compuesto de la mezcla química para pasar a través del sistema, bajo las condiciones establecidas.

\*Se han considerado los componentes químicos más representativos (cualitativamente) del análisis CG/EM de acuerdo a su TR.

Dentro de la determinación de la composición química de los tres aceites esenciales, se elucidaron componentes frecuentes (figura 8).



**Figura 8.** Marcadores químicos entre los componentes elucidados.



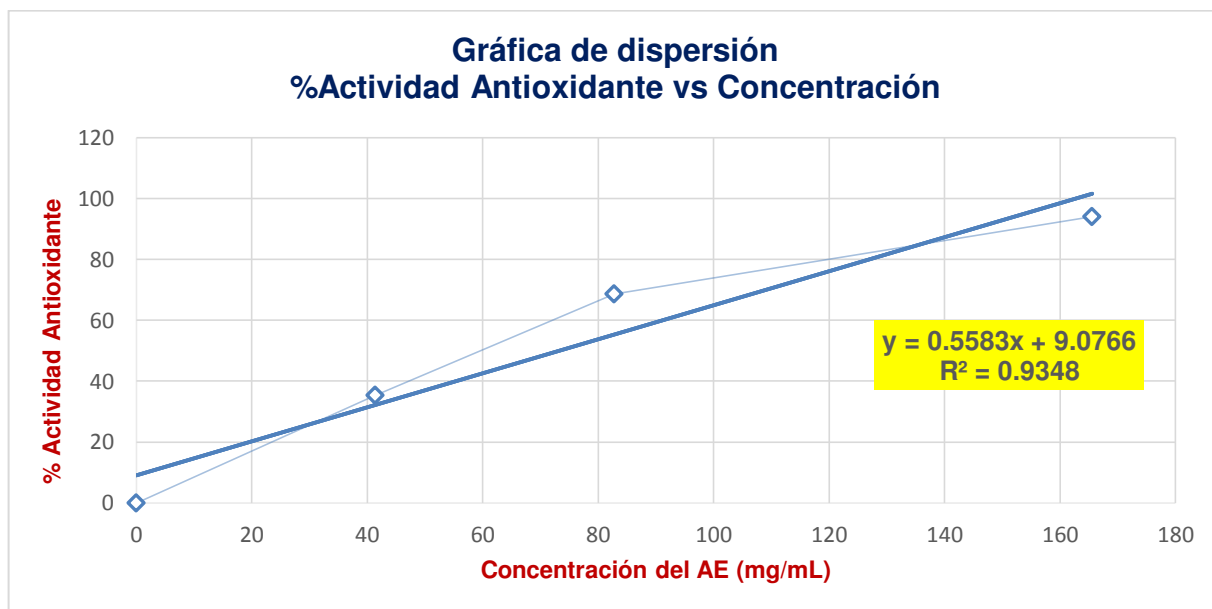
### 4.3. Evaluación de la Actividad Antioxidante.

#### 4.3.1. Método DPPH: Aceite esencial de *Senecio nutans* Sch. Bip “Wiskataya”

**Tabla 8.** Capacidad antioxidante (% Inhibición) del AE de *Senecio nutans* Sch. Bip frente al radical DPPH.

Concentración del aceite esencial (mg/mL)	Promedio Absorbancia a 517nm *	DPPH (% Inhibición)
0	0,427 (a)	0
41,4	0,276 (b)	35,41
82,8	0,134 (c)	68,62
165,6	0,0254 (d)	94,06
IC50 (mg/mL)		11,06

\* Las letras distintas en las columnas indican diferencia significativa entre las medias usando el método de Tukey con un nivel de confianza al 95% ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 9.** Curva de captación de DPPH del aceite esencial de “Wiskataya”.

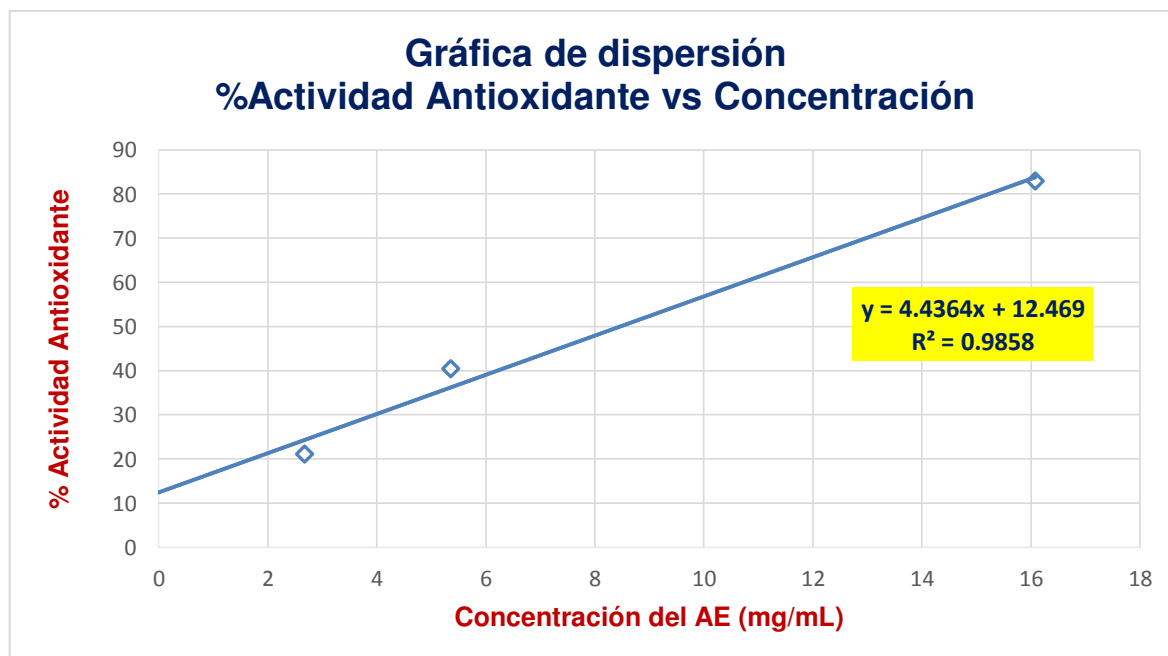
#### 4.3.2. Método DPPH: Aceite esencial de *Senecio calvus* Cuatrec “Huamanripa”

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 9 y en la figura 10.

**Tabla 9.** Capacidad antioxidante (% Inhibición) del AE de *Senecio calvus* Cuatrec frente al radical DPPH.

Concentración del aceite esencial (mg/mL)	Promedio Absorbancia a 517 nm *	DPPH (% Inhibición)
0	0,407 (a)	0
2,68	0,321 (b)	21,06
5,36	0,243 (c)	40,37
16,08	0,069 (d)	82,98
IC50 (mg/mL)		8,85

\* Las letras distintas en las columnas indican diferencia significativa entre las medias usando el método de Tukey con un nivel de confianza al 95% ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 10.** Curva de captación de DPPH del aceite esencial de “Huamanripa”

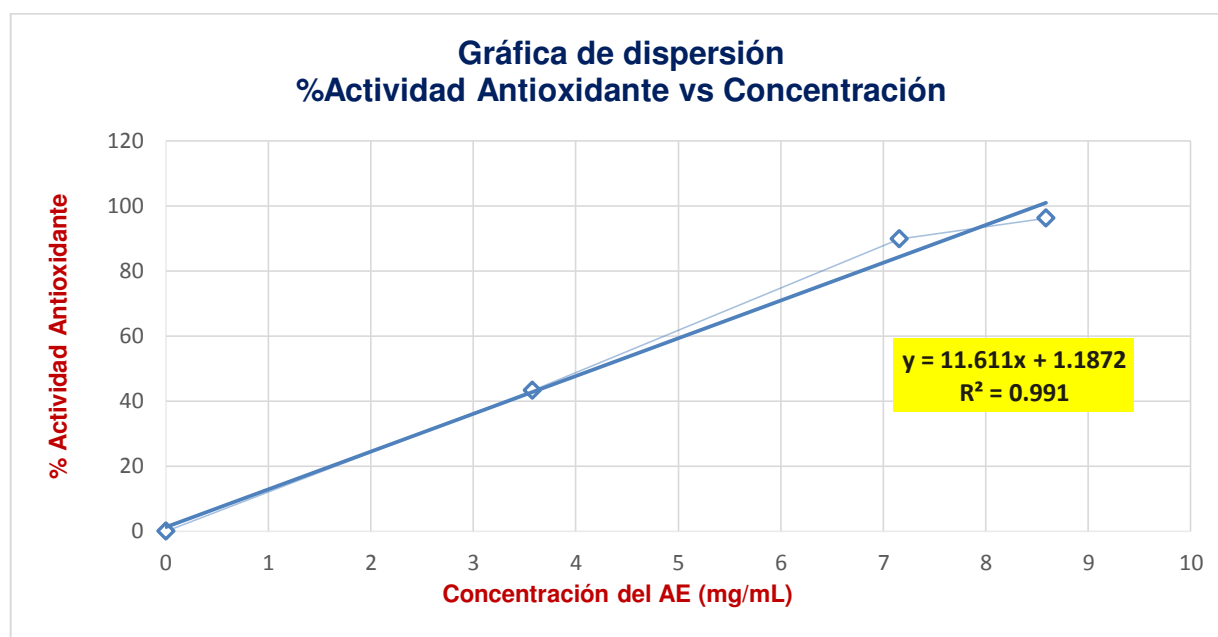
#### 4.3.3. Método DPPH: Aceite esencial de *Senecio chiquianensis* Cabrera “Remilla”

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 10 y en la figura 11.

**Tabla 10.** Capacidad antioxidante (% Inhibición) del AE de *Senecio chiquianensis* Cabrera frente al radical DPPH.

Concentración del aceite esencial (mg/mL)	Promedio Absorbancia a 517 nm *	DPPH (% Inhibición)
0	0,427 (a)	0
3,58	0,242 (b)	43,21
7,16	0,044 (c)	89,76
8,59	0,016 (d)	96,17
IC50 (mg/mL)		4,205

\* Las letras distintas en las columnas indican diferencia significativa entre las medias usando el método de Tukey con un nivel de confianza al 95% ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 11.** Curva de captación de DPPH del aceite esencial de “Remilla”

#### 4.3.4. Método DPPH: Solución estándar Trolox®.

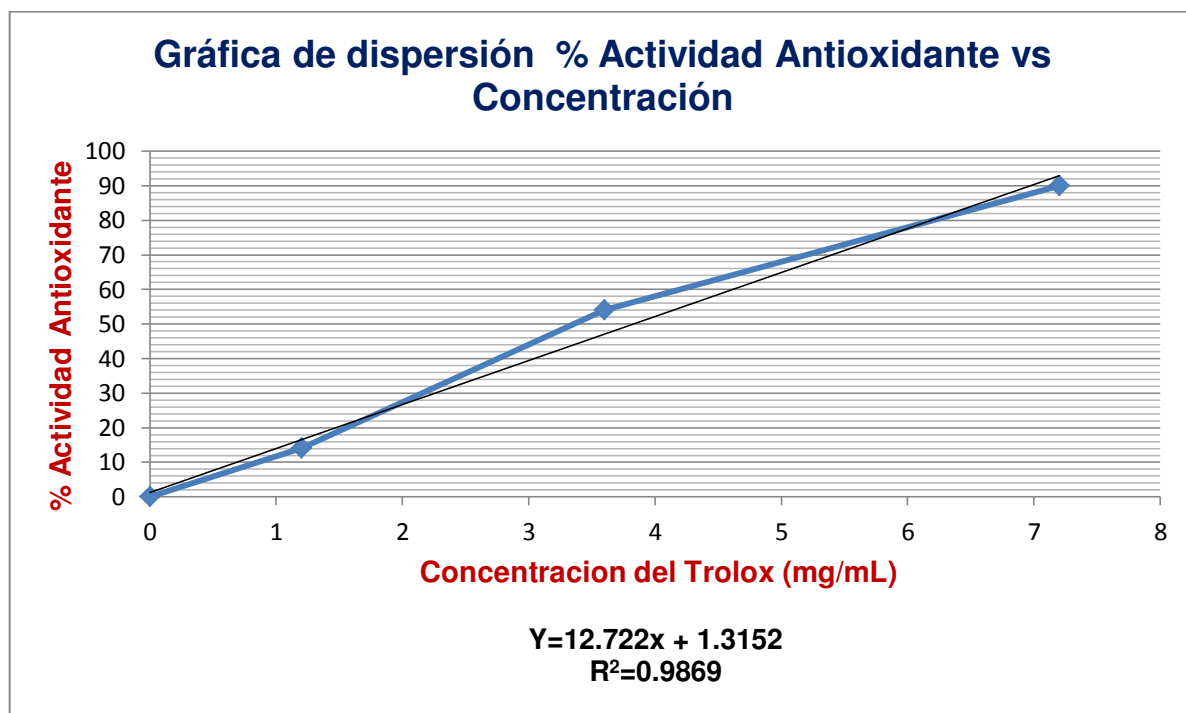
Los resultados obtenidos de la actividad antioxidante para la solución patrón Trolox® se presentan en la tabla 11 y en la figura 12.

**Tabla 11.** Resultados de la actividad antioxidante de Trolox® por el método DPPH.

Sustancia antioxidante Trolox® (mg/mL)	Promedio Absorbancia a 517 nm*	DPPH (% inhibición)
0	0,701(a)	0
1,2	0,603(b)	14,03
3,6	0,322(c)	54,00
7,2	0,071(d)	89,90

**IC<sub>50</sub> = 0,0038 mg/mL**

\* Las letras distintas en las columnas indican diferencia significativa entre las medias usando el método de Tukey con un nivel de confianza al 95% ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 12.** Curva de captación de DPPH del Trolox®.

#### 4.4. Método estadístico para el análisis de los resultados.

Las tablas 12-14 muestran: La suma de cuadrados, grados de libertad (gl), el valor estadístico de prueba (F) y la significancia observada (p) asociados a F.

**Tabla 12.** Resultados estadísticos de la prueba de Análisis de varianza (ANOVA) para el AE de *Senecio nutans* Sch. Bip “Wiskataya”.

<b>Absorbancias</b>					
	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig. p&lt;0,05</b>
Entre grupos	2,46	3	0,82	974,898	0,00
Dentro de grupos	0,01	8	0,00		
Total	2,46	11			

**Tabla 13.** Resultados estadísticos de la prueba de Análisis de varianza (ANOVA) para el AE de *Senecio calvus* Cuatrec “Huamanripa”

<b>Absorbancias</b>					
	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig. p&lt;0,05</b>
Entre grupos	2,13	3	0,71	35,897	0,00
Dentro de grupos	0,16	8	0,02		
Total	2,29	11			

**Tabla 14.** Resultados estadísticos de la prueba de Análisis de varianza (ANOVA) para el AE de *Senecio chiquianensis* Cabrera “Remilla”.

<b>Absorbancias</b>					
	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig. p&lt;0,05</b>
Entre grupos	3,03	3	1,01	2004,0 67	0,00
Dentro de grupos	0,00	8	0,00		
Total	3,04	11			

Los grupos definidos por concentraciones y absorbancias, poseen diferencia estadísticamente significativa de la actividad antioxidante, el valor estadístico F, lleva asociado un valor  $p < 0,05$ , lo cual es un indicador que las interacciones entre las concentraciones poseen un efecto significativo sobre el porcentaje de Inhibición. Para todos los aceites esenciales evaluados a distintas concentraciones el intervalo de confianza al 95% presenta límites (anexos 13-18).

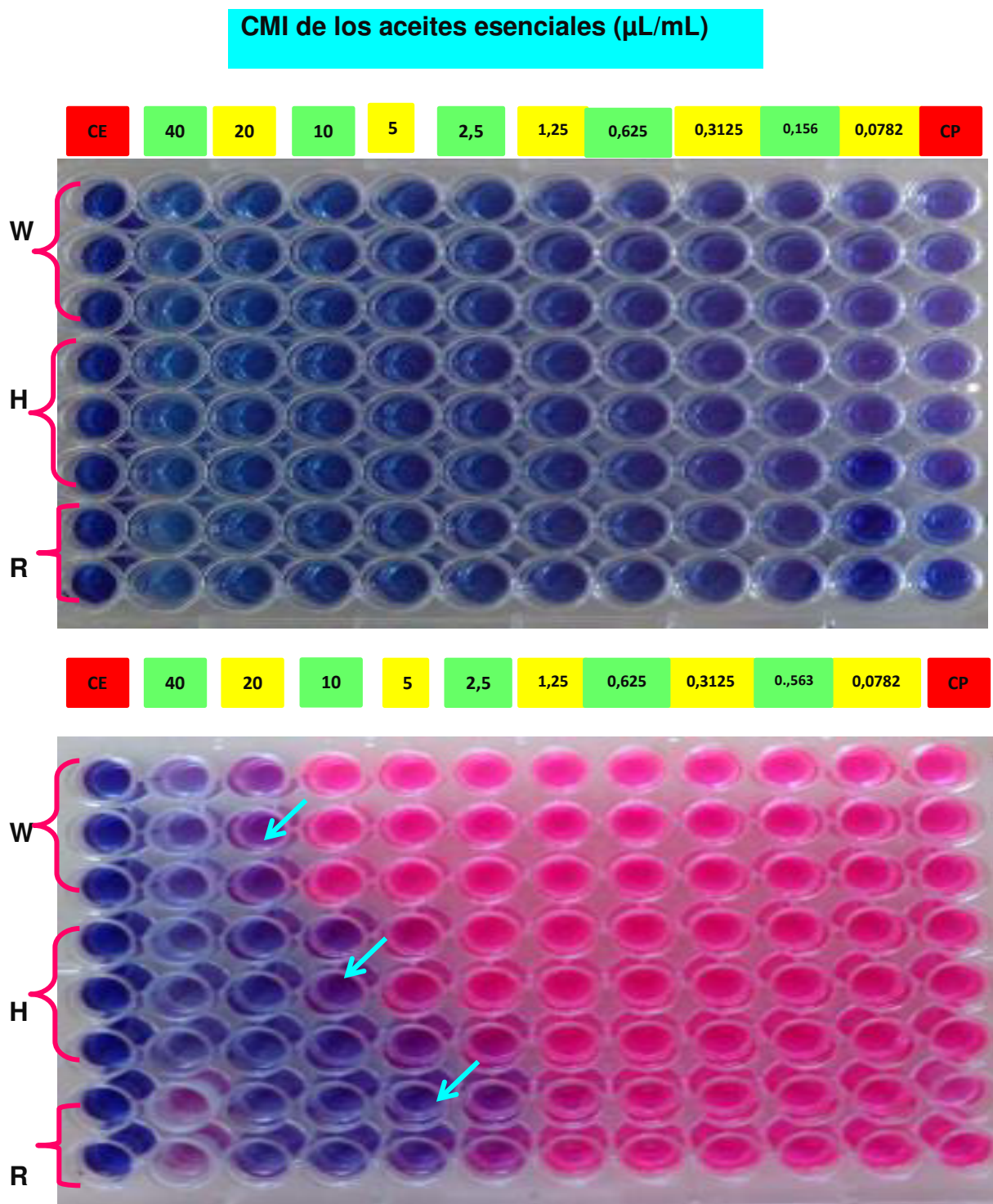
#### 4.5. Actividad antimicrobiana.

##### 4.5.1. CMI por el método microdilución colorimétrica en microplaca.

Los resultados de la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) por el método de microdilución colorimétrica de los aceites esenciales en estudio se presentan en la tabla 15 y las figuras 13-17.

**Tabla 15.** Valores de la Concentración mínima inhibitoria de los tres aceites esenciales sobre cuatro microorganismos.

Aceites esenciales de plantas estudiadas	Concentración Mínima Inhibitoria (µl/mL)			
	Microorganismos			
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	<i>Bacillus subtilis</i> - cepa ambiental	<i>Escherichia coli</i> - cepa clínica.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Senecio nutans</i> Sch. Bip "Wiskataya"	20	10	40	>40
<i>Senecio calvus</i> Cuatrec "Huamanripa"	10	0,625	40	>40
<i>Senecio chiquianensis</i> Cabrera "Remilla"	5	2,5	20	40
<b>Control</b>				
Ciprofloxacino	1	0,25	0,125	8



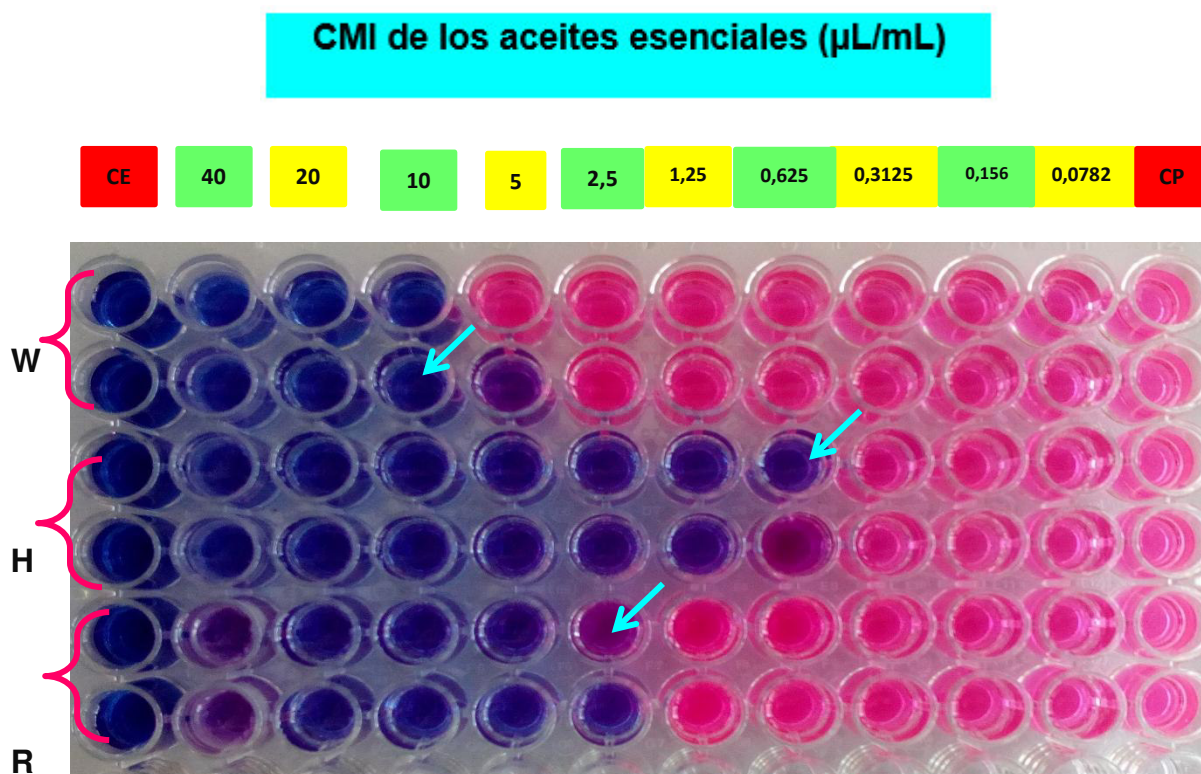
**Figura 13.** Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los aceites esenciales por el método de Microdilución colorimétrica frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



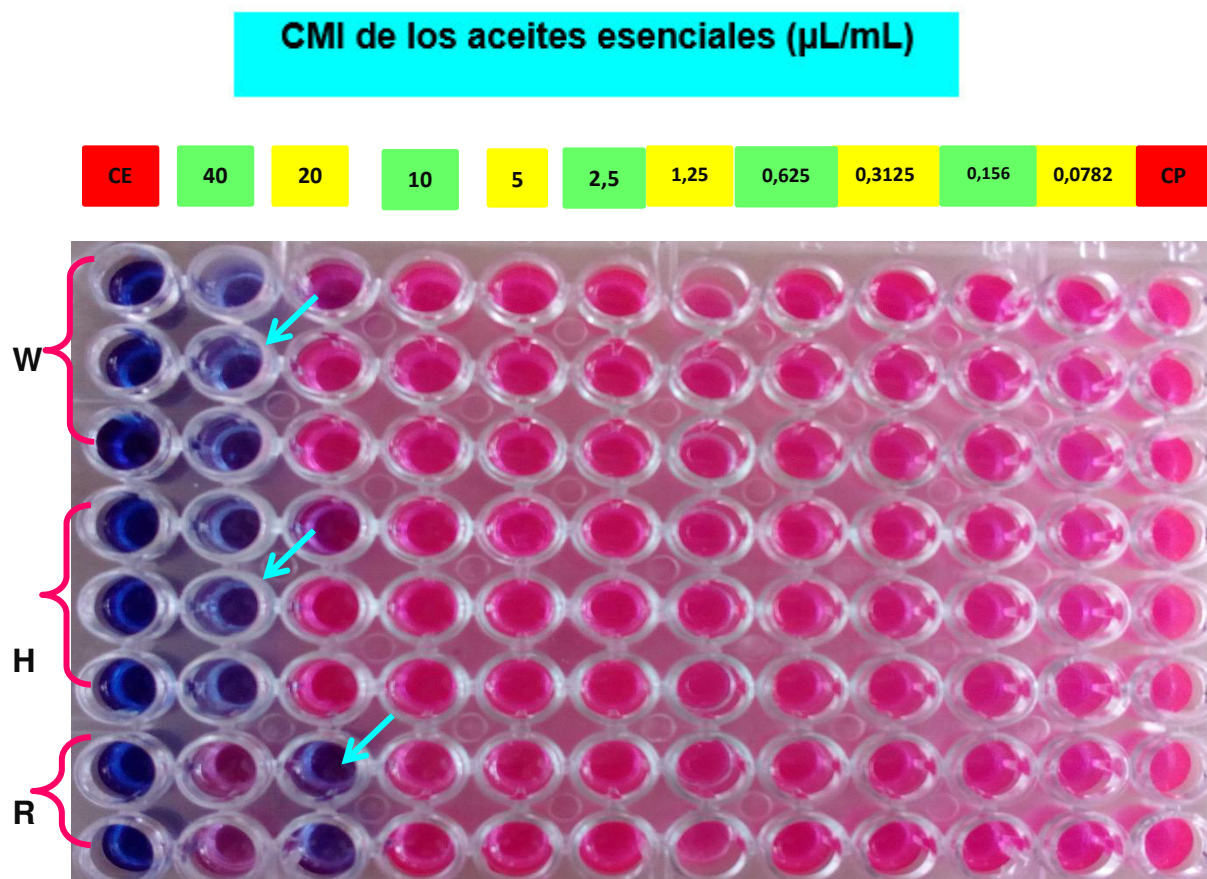
**Leyenda: CE (Control de esterilidad), CP (Control positivo)**

Flecha celeste: Indica la Concentración Mínima Inhibitoria.

- W: *Senecio nutans* Sch. Bip “Wiskataya”.
- H: *Senecio calvus* Cuatrec “Huamanripa”
- R: *Senecio chiquianensis* Cabrera “Remilla”



**Figura 14.** Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los aceites esenciales por el método de Microdilución colorimétrica frente a *Bacillus subtilis*-ambiental.

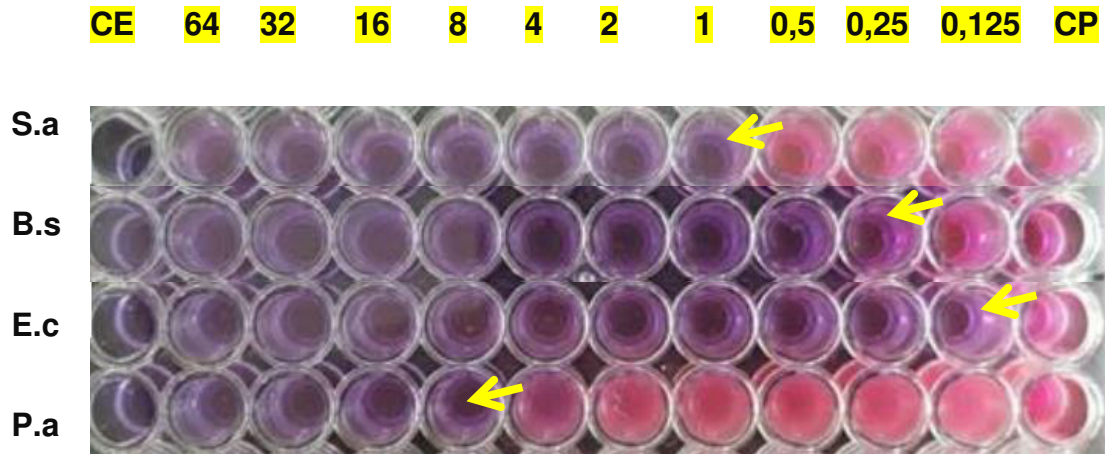


**Figura 15.** Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los Aceites esenciales por el método de Microdilución colorimétrica frente a *Escherichia coli*-cepa clínica.



**Figura 16.** Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los aceites esenciales por el método de Microdilución colorimétrica frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

### CMI del Control Ciprofloxacino ( $\mu\text{g/mL}$ )



**Figura 17.** Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del control Ciprofloxacino por el método de microdilución colorimétrica contra cuatro microorganismos.

**Leyenda:** CE (Control de esterilidad), CP (Control Positivo), S.a (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), B.s (*Bacillus subtilis* ambiental), E.c (*Escherichia coli* Cepa clínica), P.a (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853).



## V. DISCUSIÓN

El género *Senecio* pertenece a la familia Asteraceae, cuyas especies han sido objeto de estudios fitoquímicos y biológicos, motivados por sus numerosas aplicaciones etnobotánicas.

Se extrajo los aceites esenciales (AE) de *Senecio nutans* Sch. Bip., *Senecio calvus* Cuatrec y *Senecio chiquianensis* Cabrera, provenientes de Puquio (Ayacucho), Huancayo (Junín) y Caraz (Ancash) respectivamente, mediante el método de destilación por arrastre de vapor de agua. El análisis fisicoquímico permitió conocer las constantes físicas de los tres aceites esenciales estudiados, estos valores son considerados como parámetros de calidad aromática y pureza. Se ha obtenido de las partes aéreas de *Senecio nutans* Sch. Bip., *Senecio calvus* Cuatrec y *Senecio chiquianensis* Cabrera un rendimiento de 0,97, 0,03 y 0,42% (v/p) respectivamente. Las diferencias relacionadas a las especies vegetales investigadas estarían sujetos a factores climatológicos, tipo de suelo, estación del año, lugar geográficos<sup>11</sup>.

La determinación de los compuestos químicos en los aceites esenciales investigados mediante Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/EM) fue en base al Tiempo de Retención (TR), identificándose principalmente 1-isopropil- 4-metil biciclo [3,1,0] hexano,  $\gamma$ -terpineno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -felandreno, Ciclohexano,1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilidene) en el AE de *Senecio nutans* Sch. Bip.; 1-isopropil-4-metil biciclo [3,1,0] hexano,  $\alpha$ -pineno y  $\gamma$ -terpineno en el aceite esencial de *Senecio calvus* Cuatrec; asimismo en el AE de

*Senecio chiquianensis* Cabrera, los componentes mayoritarios fueron 1-isopropil-4-metil biciclo [3,1,0] hexano,  $\gamma$ -terpineno,  $\gamma$ -muroleno y  $\beta$ -ocimeno. La presencia de estos compuestos, son característicos de las plantas del género *Senecio* y que se sustenta en trabajos realizados para este género, así por ejemplo Pérez *et al.* elucidaron la composición del *Senecio graveolens* (*Compositae*), obteniendo compuestos como  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -felandreno,  $\alpha$ -terpineno, *p*-cimeno, sabineno,  $\gamma$ -terpineno<sup>67</sup>. Por otro lado Arancibia L. *et al.* estudiaron los aceites esenciales de dos especies del género *Senecio* (*Asteraceae*) de la región Patagónica: *Senecio mustersii* y *S. subpanduratus*, las cuales mediante CG/EM se caracterizaron por  $\alpha$ -pineno (53,3%) y  $\beta$ -pineno (21,2%) como principales componentes para *S. mustersii* y  $\alpha$ -pineno(22,1%),  $\beta$ -pineno (11,9%), sabineno (23,8%), terpineno-4-ol (10,2%) y *p*-cimeno (8,7%) para *S. subpanduratus*<sup>15</sup>.

Estos compuestos terpenoides, han sido asociados a una amplia gama de las propiedades biológicas, como quimiopreventivos del cáncer, antioxidantes, citotóxicos, antimicrobianas, antimicóticas, antivirales, antihiper glucémicas, antiinflamatorias y antiparasitarias<sup>7,68-70</sup>.

En lo referente a la actividad antioxidante *in vitro*, se utilizó el método de captación del radical 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), compuesto que permite evidenciar la actividad donadora de electrones o de átomo de hidrógeno no específico. Es un método rápido, simple, económico y ampliamente utilizado para estimar la actividad antioxidante general, ya que permite llevar a cabo la reacción de la muestra con DPPH en metanol/agua, lo que facilita la extracción de

compuestos antioxidantes de la muestra y se puede usar para examinar antioxidantes hidrófilos y lipófilos<sup>71</sup>.

Los resultados muestran un IC<sub>50</sub> de 11,06 mg/mL para el aceite esencial de *Senecio nutans* Sch. Bip, un IC<sub>50</sub> de 8,85 mg/mL para *Senecio calvus* Cuatrec y un IC<sub>50</sub> de 4,205 mg/mL para *Senecio chiquianensis* Cabrera, siendo esta última especie estudiada la que mejor actividad presentó en comparación a las dos primeras, sin embargo los tres aceites esenciales exhiben actividad antioxidante menor que el patrón de referencia Trolox® (IC<sub>50</sub>=0,0038 mg/mL). Existe literatura que refiere que la razón de su potencial actividad antioxidante se debe a la presencia de terpenos, particularmente aquellos con grupos metileno en sus moléculas<sup>7,72</sup>.

No se reporta investigaciones similares con el aceite esencial de *Senecio nutans* Sch. Bip, *Senecio calvus* Cuatrec y *Senecio chiquianensis* Cabrera, por lo que no puede compararse a detalle los resultados. La presente investigación constituye entonces conocimiento generado y que servirá para posteriores estudios.

Con respecto a la actividad antibacteriana *in vitro* de los aceites esenciales estudiadas, se utilizó el método de Microdilución colorimétrica frente a cuatro microorganismos: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* cepa ambiental, *Escherichia coli* cepa clínica y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, los cuales fueron elegidas en base a su impacto actual, ya que son causantes de infecciones en la comunidad en general a nivel hospitalario, donde las cepas son cada vez más resistentes a los tratamientos<sup>73</sup>. El *Staphylococcus aureus* es

asociada con una alta morbilidad y mortalidad, representando cerca de 11 a 33% de las bacteriemias hospitalarias y un porcentaje importante de las adquiridas en la comunidad<sup>74</sup>.

El *Bacillus subtilis* es capaz de formar esporas resistentes que le permite soportar condiciones extremas de calor y la desecación en el medio ambiente promueve su supervivencia en muchos casos, como los hospitales que crean problemas para la limpieza y la desinfección, lo cual se ha relacionado con el desarrollo de un conjunto de síntomas, particularmente en pacientes con enfermedades subyacentes, como cáncer y trastornos hematológicos. Además, *B. subtilis* produce una toxina extracelular conocida como subtilisina, un compuesto capaz de causar reacciones alérgicas e hipersensibilidad en personas que están expuestas repetidamente a ella<sup>75</sup>.

La *E. coli* es la especie bacteriana más recuperada en los laboratorios clínicos y ha sido responsable de producir más del 80% de las infecciones del aparato urinario, así como la mayoría de las infecciones nosocomiales<sup>76</sup>. Asimismo, la *Pseudomonas aeruginosa*, es relacionada a infecciones en pacientes con defensas inmunológicas deficientes, siendo entonces un patógeno nosocomial importante, así como lo evidencian Luján D. *et al.* quienes encontraron niveles elevados de resistencia a los antibióticos utilizados contra *P. aeruginosa* en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, Lima<sup>77</sup>. En relación a la naturaleza de las cepas (ATCC, clínica y ambiental), no existe diferencias significativas en las respuestas bioquímicas, lo que justifica su utilización como microorganismos de



estudio<sup>78</sup>, ya que se aseguró que la pureza y estabilidad sean íntegras en cada caso.

Se determinaron las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) de 20 µL/mL para el aceite esencial de *Senecio nutans* Sch. Bip, un CMI de 10 µL/mL para *Senecio calvus* Cuatrec y un CMI de 5 µL/mL para *Senecio chiquianensis* Cabrera; probadas frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Las especies del género *Senecio* tienen buena actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, como se evidencia en la investigación realizada por Alzamora L, *et al*<sup>4</sup>, quienes evaluaron la actividad antimicrobiana *in vitro* de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas, incluyéndose a especies del género *Senecio*.

Con respecto a la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los AE frente a *Bacillus subtilis* ambiental, se obtuvo un CMI de 10 µL/mL para el aceite esencial de *Senecio nutans* Sch. Bip, un CMI de 0,625 µL/mL para *Senecio calvus* Cuatrec y un CMI de 2,5 µL/mL para *Senecio chiquianensis* Cabrera. Asimismo, los AE frente a *Escherichia coli* cepa clínica, resultaron tener un CMI de 40 µL/mL para el aceite esencial de *Senecio nutans* Sch. Bip, un CMI de 40 µL/mL para *Senecio calvus* Cuatrec y un CMI de 20 µL/mL para *Senecio chiquianensis* Cabrera. Por otro lado la actividad antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 de los AE de *Senecio nutans* Sch. Bip. (CMI>40µL/mL), *Senecio calvus* Cuatrec (CMI>40µL/mL) y *Senecio chiquianensis* Cabrera (CMI=40µL/mL), fue casi ausente, lo cual afirma que la *Pseudomonas aeruginosa* es la más resistente dentro de los cuatro microorganismos probados, similar a lo señalado en diversos estudios<sup>4,79</sup>.

De acuerdo a los resultados, las bacterias Gram positivas pueden ser más susceptibles debido a que solo tienen una capa exterior de peptidoglicano que no es una barrera efectiva<sup>80</sup>. Por el contrario, la ausencia de susceptibilidad de las bacterias Gram negativas no es sorprendente, ya que estos microorganismos poseen una membrana dual, la cual que impide la penetración de diversos agentes antimicrobianos. Además, contienen enzimas en su espacio periplásmico con la capacidad de descomponer moléculas extrañas<sup>7,81,82</sup>.

Según Silva *et al*, algunas peculiaridades de aceites esenciales tales como volatilidad, baja solubilidad en agua y su complejidad, así como factores relacionados a la naturaleza de cada microorganismo y el aceite esencial a analizar interfieren significativamente con los resultados de las pruebas de evaluación de la actividad antimicrobiana<sup>83</sup>.

Diversos estudios reportan que la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se debe, en gran medida, a la presencia de terpenos; siendo los grupos alcoholes más representativos, seguidos de los que poseen aldehídos y finalmente los que tienen grupos cetónicos<sup>83</sup>. Entre los compuestos a los que se les atribuyen propiedades antibacterianas, están: Terpenos como el safrol,  $\alpha$ -humuleno,  $\beta$ -cariofileno,  $\beta$ -elemeno, garmacreno,  $p$ -cimeno,  $\alpha$ -terpineno, mirceno, entre otros.

La técnica de Microdilución colorimétrica empleada en este estudio, sirve para encontrar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), un parámetro mucho más sensible, rápido y exacto que métodos convencionales, brindando la posibilidad

de una acción oportuna de terapia antibacteriana, lo que significa una importante reducción de los costos totales en cuanto a días de hospitalización y exámenes de laboratorio, también confiere un control de estandarización y reproducibilidad de los resultados en menor tiempo<sup>64,73,84</sup>.

## VI. CONCLUSIONES

1. Los aceites esenciales de las partes aéreas de *Senecio nutans* Sch. Bip, *Senecio Calvus* Cuatrec y *Senecio Chiquianensis* Cabrera se obtuvieron por el método de destilación por arrastre de vapor de agua, con un rendimiento de 0.97, 0.42 y 0.03% respectivamente.
2. Se identificaron hidrocarburos monoterpenos y sesquiterpenos como componentes mayoritarios, siendo el 1-isopropil- 4-metil biciclo [3.1.0] hexano y  $\gamma$ -Terpineno las estructuras elucidadas comunes en los aceites esenciales de las tres especies del género *Senecio* mediante Cromatografía de Gases/ Espectrometría de Masas (CG/EM).
3. Los aceites esenciales de *Senecio nutans* Sch. Bip presentaron un  $IC_{50}$  de 11,06 mg/mL, el *Senecio calvus* Cuatrec un  $IC_{50}$  de 8,85 mg/mL y *Senecio chiquianensis* Cabrera un  $IC_{50}$  de 4,205 mg/mL, tienen capacidad antioxidante como donadores de electrones al radical DPPH menor que la sustancia de referencia Trolox® ( $IC_{50}=0,0038$  mg/mL).
4. En relación a la prueba de microdilución colorimétrica, los aceites esenciales de *Senecio nutans* Sch. Bip, *Senecio calvus* Cuatrec y *Senecio chiquianensis* Cabrera presentaron actividad antimicrobiana significativa frente a bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Bacillus subtilis* ambiental) y escasa actividad frente a las bacterias Gram negativas estudiadas (*Escherichia coli* cepa clínica y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853).

## **VII. RECOMENDACIONES**

- ✓ Los principios activos del aceite esencial actúan sinérgicamente porque sus componentes principales cuando se utilizan como referencias presentan menos actividad que el aceite esencial. Por ello, se deben desarrollar estudios de sinergismo y antagonismo.
- ✓ La estimación de la actividad antioxidante por el método del DPPH sienta la base para continuar con otras pruebas adicionales, ya que un único método no es suficiente y no existe un enfoque de acceso directo para determinar la actividad antioxidante en todos los casos.
- ✓ En base a lo investigado la microdilución resulta ser una técnica más rápida y menos laboriosa para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (actividad antimicrobiana), emplear este método nos daría mayor oportunidad de realizar investigaciones de plantas de nuestro país al disminuir el costo y tiempo empleado.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hostettmann K, Marston A. The Search for New Drugs from Higher Plants. *Chimia*. 2007; 61(6): 322-326.
2. World Health Organization. Traditional Medicine: Definitions 2010.
3. Santiváñez R, Cabrera J. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas 1<sup>ra</sup> ed. Lima: CENSI Minsa.2013.
4. Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernández G. Medicina Tradicional en el Perú: Actividad antimicrobiana in vitro de los Aceites esenciales extraídos de Algunas Plantas Aromáticas. *An Fac Med*. 2001; 62(2):156-161.
5. Yap PS, Yiap BC, Ping HC, Lim SH. Essential oils, a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance. *Open Microbiol J*. 2014; 8:6-14.
6. Consejo Nacional del Ambiente. Perú: País megadiverso. Lima;1999.
7. Laciari A, Vaca M, Carrizo R, Saad J. Antibacterial and Antioxidant activities of the essential oil of *Artemisia echegarayi* Hieron. (Asteraceae). *Rev Argent Microbiol*. 2009; 41 (4): 226-231.
8. Termentzi A, Fokialakis N, Skaltsounis AL. Natural resins and bioactive natural products thereof as potential antimicrobial agents. *Curr Pharm Des*. 2011;17(13):1267-90.
9. Mostacero J, Castillo F, Mejía F, Gamarra O, Charcape J, Ramírez R. Plantas Medicinales del Perú – Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica. Trujillo: Asamblea Nacional de Rectores; 2011.
10. Andreani S, Paolini J, Costa J, Muselli A. Essential-oil composition and chemical variability of *Senecio vulgaris* L. from Corsica. *Chem Biodivers*. 2015; 12(15): 752-766.

11. Ochoa K, Paredes LR, Bejarano DL, Silva RJ. Extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). Scientia Agropecuaria. 2012; 3(2012): 291 - 302.
12. Lopez S, Lima B, Belén M, Liza M, Hadad M, Zygodlo J et al. Chemical composition, antibacterial and repellent activities of *Azorella trifurcata*, *Senecio pogonias*, and *Senecio oreophyton* essential oils. Arab J Chem. 2014.
13. Lone SH, Bhat KA, Bhat HM, Majeed R, Anand R, Hamid A, Khuroo MA. Essential oil composition of *Senecio graciliflorus* DC: comparative analysis of different parts and evaluation of antioxidant and cytotoxic activities. Phytomedicine. 2014;21(6):919-25.
14. Kahriman N, Tosun G, Terzioglu S, Karaoglu S. A, Yayh N. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from the Flower, Leaf, and Stem of *Senecio pandurifolius*. Rec Nat Prod. 2011; 5: 82-91.
15. Arancibia L, Naspi C, Pucci G, Arce M. Aromatic plants from Patagonia: chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Senecio mustersii* and *S.subpanduratus*. B Latinoam Caribe de Pl. 2010; 9 (2): 123-126.
16. Del Pilar M. *Screening* fitoquímico, antimicrobiano y antioxidante de plantas pre-andinas y del altiplano chileno [Tesis]. Santiago de Chile: Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas; 2009.
17. Benites J, Bravo F, Rojas M, Fuentes R, Moiteiro C, Venancio F. Composition and antimicrobial *Screening* of the essential oils from the leaves and stems of *Senecio atacamensis* Phil. From Chile. J Chil Chem Soc. 2011;56(2): 712-714.

18. Kenoufi M, Lograda T, Ramdani M, Chalard P, Figueredo G. Chemical composition, antimicrobial activity of essential oil and chromosome number of *Senecio jacobaea* L. from Algeria. Int J Pharma Res Health Sci. 2017; 5 (2): 1672-1678
19. Muñoz F. Plantas medicinales y aromáticas: Estudio, cultivo y procesado. 1ª ed. Madrid: Ediciones Mundi Prensa; 2002. p.15
20. Méndez R. Cultivos orgánicos: Su control biológico en plantas medicinales y aromáticas. 2ª ed. Bogotá: Ecoe ediciones; 2008.p. 2-5.
21. Carhuapoma M. Plantas aromáticas nativas del Perú: Biocomercio de Fragancias, Sabores y Fitocosméticos. 1ª ed. Lima: CONCYTEC; 2011.
22. Jorge G. "Asteraceae", La naturaleza Fauna y Flora. Diarium [internet] 2010 [Consultado 19 de julio 2017] Universidad de Salamanca. Disponible en: <http://diarium.usal.es/jorgegd56/2010/10/30/asteraceae/>.
23. Soto M. Determinación del efecto antimicrobiano in vitro de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby (Asteraceae) [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
24. Beltrán H, Roque J. El género *Senecio* L. (Asteraceae-Senecioneae) en el departamento de Lima, Perú. Mus. Hist. Nat. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Arnaldoa. 2015; 22 (2): 395 – 412.
25. Ruiz L., Reina M., Gonzáles A., Cabrera R., Ruiz L. Pyrrolizidine alkaloids of *Senecio* sp from Peru. Quim Nova. 2011; 34 (6): 992-995.
26. Hassler M. World Plants: Synonymic Checklists of the Vascular Plants of the World in the Catalogue of Life [Internet]. The Catalogue of Life Partnership; 2016.



27. Heim E. Flora of Arequipa, Peru: A Field Guide for Nature Lovers. [Internet]. 1st ed. Norderstedt: BoD; 2014. [Citado 20 jul 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe>
28. Florian JC. Evaluación de los Principios Activos de *Senecio calvus* en la Formación de Biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*. [Tesis de postgrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2014.
29. Castro AJ. Composición química del aceite esencial de las hojas de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) "coca", actividad antioxidante y determinación antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* [Tesis de Postgrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2008.
30. El Asbahani A, Miladi K, Badri W, Sala M, Aït Addi EH, Casabianca H, et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. Int J Pharm. 2015; 483: 220-243.
31. Bueno JG, Martinez JR, Stashenko EE, Ribón W. Antitubercular activity of eleven aromatic and medicinal plants occurring in Colombia. Biomédica. 2009; 29 (1): 51-60.
32. Edris AE. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. Phytother Res. 2007; 21:308-23
33. Coronado M, Vega S, Gutiérrez L, Vázquez T, Radilla C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev Chil Nutr. 2015; 42(2).
34. Zamora, J. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. Rev Chil Nutr. 2007; 34 (1): 17-26.

35. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39 (1): 44-84.
36. Lee JK., Min DB. Reactive oxygen species, aging and antioxidants nutraceuticals. *Compreh Rev. Food Sci Food Safety.* 2004; 3: 21-33.
37. Devasagayam T y cols. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India* 2004; 52: 794-804.
38. Maldonado O, Jiménez EN, Guapillo MRB, Ceballos GM, Méndez EM. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Rev Med UV.* 2010.
39. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, et al. Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. *BioMed Res Int.* 2014.
40. Ahumada OJ, Bardales MJ. Perfil enzimático antioxidante en habitantes de Nueva Cajamarca – San Martín [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2011.
41. Pisoschi AM, Pop A, The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a Review. *Eur J Med Chem.* 2015; 5(97):55-74.
42. Castillo CR, Jaffé R. Free radical scavenging (antioxidant activity) of natural dissolved organic matter. *Marine Chem.* 2015; 668–676.
43. Dastmalchi K, Dorman D, Kosarb M, Hiltunen R. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water soluble Moldavian balm

- (Dracocephalum moldavica L.) extract. L.W.T- Food Sci Technol. 2007; 40 (240): 239-248.
44. Zekaria D. Los aceites esenciales, una alternativa a los Antimicrobianos. (Monografía en internet) Laboratorios Calier. 2007. Disponible en: [http://www.wpsa-aeca.es/aeca\\_imgs\\_docs/wpsa1182855355a.pdf](http://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/wpsa1182855355a.pdf)
45. Johnson EM. Issues in antifungal susceptibility testing. J Antimicrob Chemother. 2008;61(suppl 1):13-8.
46. Juven BJ, Kanner J, Schved F, Weisslowicz H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. J Appl Bacteriol. 1994;76(6):626-31.
47. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100-S25 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty Fifth Informational Supplement. USA; 2015.
48. Queensland Herbarium. Collection and preserving plant specimens, a manual. 2nd edition. Department of Science, Information Technology and Innovation, Brisbane. 2016.
49. Cerrate E. Manera de preparar plantas para un herbario. Museo de Historia Natural (Lima). Serie de Divulgación No.1. 10 pp; 1969.
50. Rodríguez J. Estructura química y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial de *Eryngium foetidum* L. «siuca culantro». [Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
51. Granados, C., Yáñez, X. & Acevedo, D. Evaluación de la Actividad Antioxidante del Aceite Esencial Foliar de *Myrcianthes leucoxyla* de Norte de Santander (Colombia). La Serena. 2013; 25(3). ISSN 0718-0764.

52. Dixit S. Specifications in the flavor & fragrance industry. The FAFAI Journal. 2006.
53. The United States Pharmacopeial Convention. <841> Specific Gravity en The United States Pharmacopeia 38/NF 33. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention; 2015.
54. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm Wiss Technol. 1995; 28 (1): 25-30.
55. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Songklanakarin. J Sci Technol. 2004; 26(2): 211-219.
56. Tovar Del Río J. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS<sup>+</sup> de 30 plantas recolectadas en la ecorregión cafetera [Tesis]. Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira.2013.
57. Kedare S, Singh R. Génesis and developement of DPPH method of antioxidante assay. J Food Sci Tech. 2011; 48(4): 412-422.
58. Toro ALR. Vigo F, Muedas G. Evaluación de la actividad antioxidante del Pisco Peruano mediante Voltametría cíclica. Rev Soc Quím Perú. Lima. 2011; 77 (2).
59. Friaa O, Brault D. Kinetics of the reaction between the antioxidant Trolox® and the free radical DPPH in semi-aqueous solution. Org Biomol Chem 2006; 4: 2417-2423.
60. Wayne D. Bioestadística. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. México.: 4º Edición. Edit. Limusa Wiley; 2002.

61. Elshikh M, Ahmed S, Funston S, Dunlop P, McGaw M, Marchant R, et al. Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. *Biotechnol Lett.* 2016; 38(6): 1015-1019.
62. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M07-A10 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Tenth Edition. USA; 2015.
63. Sarker SD, Nahar L, Kumarasamy Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods.* 2007; 42(4): 321-324.
64. Ruiz J. Actividad antifúngica in vitro y concentración mínima inhibitoria mediante microdilución de ocho plantas medicinales. [Tesis de Postgrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2013.
65. Wiegand I, Hilpert K, Hancock R. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc.* 2008;3(2):163-75.
66. McNicholl BP, McGrath JW, Quinn JP. Development and application of a resazurin-based biomass activity test for activated sludge plant management. *Water Res.* 2006; 41:127–133.
67. Pérez C, Agnese AM, Cabrera JL. The essential oil of *Senecio graveolens* (Compositae): Chemical composition and antimicrobial activity tests. *J Ethnopharmacol.* 1999; 66: 91-96.

68. Zhao G, Cao Z, Zhang W, Zhao H. The sesquiterpenoids and their chemotaxonomic implications in *Senecio* L. (Asteraceae). *Biochem Syst Ecol.* 2015; 59: 340-347.
69. Lee JH, Lee BK, Kim JH, Lee SH, Hong SK. Comparison of Chemical Compositions and Antimicrobial Activities of Essential Oils from Three Conifer Trees; *Pinus densiflora*, *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtuse*. *J Microbiol Biotechnol.* 2009; 19(4): 391-396.
70. Echiburú C, Alfaro S, Brown N, Salas CO, Cuellar M, Santander J, et al. The selective cytotoxicity elicited by phytochemical extract from *Senecio graveolens* (Asteraceae) on breast cancer cells is enhanced by hypoxia. *Int J Oncol.* 2014.
71. Kedare SB, Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol.* 2011;48(4): 412-422.
72. Sacchetti G. et al. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobial in foods. *Food Chem.* 2005; 91: 621-632
73. Carmilema CS, Delgado RA. Validación del método de Microdilución para la actividad antibacterina de extractos de plantas (ortiga, ajeno, malva olorosa). [Tesis de pregrado]. Cuenca, Ecuador: Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias químicas; 2010.
74. Tibavizco D, Rodríguez J, Silva E, Cuervo S, Cortés J. Enfoque terapéutico de la bacteriemia por *Staphylococcus aureus*. *Biomédica.* 2007; 27: 294-307.

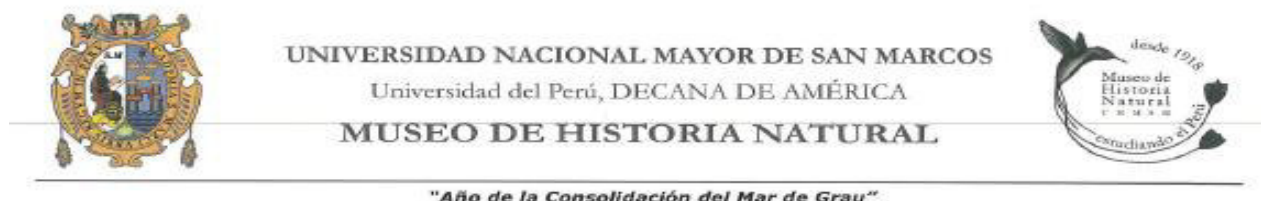
75. Yassin NA, Ahmad AM. Incidence and Resistotyping Profiles of *Bacillus subtilis* Isolated from Azadi Teaching Hospital in Duhok City, Iraq. *Mater Sociomed.* 2012;24(3):194-197.
76. García A, García E, Hernández A, Ruiz J, Yagüe G, Herrero J, Gómez J. Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. *Rev Esp Quimioter.* 2011; 24 (2):57-66.
77. Luján DA, Ibarra JO, Mamani E. Resistencia a los antibióticos en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital universitario en Lima, Perú. *Rev Biomed.* 2008; 19:156-160.
78. Wen Z, Iglesias B, Abreu M, Beltrán JR. Control de medios de cultivo con empleo de cepas bacterianas autóctonas como patrones secundarios de referencia. *Rev Cubana Hig Epid.* 2004; 42 (1).
79. Florian J. Evaluación de los Principios activos de *Senecio calvus* en la formación de Biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*. [Tesis de Postgrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2014.
80. Scherrer R, Gerhardt P. Molecular sieving by the *Bacillus megaterium* cell wall and protoplast. *J. Bacteriol.* 1971; 107 (3): 718-735.
81. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2003; 67 (4): 593-656.

82. Silva G.N.S, Spader T.B, Alves S.H, Mallmann C.A, Heinzmann B.M.  
Composition and evaluation of the antimicrobial activity of the essential oil of  
*Senecio selloi* Spreng DC. Rev Bras Pl Med. Campinas. 2013; 15 (4): 503-507.
83. Sánchez Y, Pino O, Correa T, Naranjo E, Iglesia A. Estudio químico y  
microbiológico del aceite esencial de *Piper auritum* KUNTH (Caisimón de Anís).  
Rev Protección Veg. 2009; 24(1): 39-46.
84. Castro A, Ruiz J, Suárez S, Ramos N, Carhuapoma M, Alcarraz M et al.  
Evaluación química y antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Erythroxylum*  
*coca* Lam.Var. "Coca Huánuco": Diseño de una formulación farmacéutica.  
*Theorema – UNMSM*. 2014; 1 (1).



## IX. ANEXOS

### ANEXO 1



#### CONSTANCIA N° 255-USM-2016

EL JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa), recibida de **Hattie ALDERETE ESPEJO**, estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Senecio nutans*** Sch.Bip y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION:** MAGNOLIOPHYTA

**CLASE:** MAGNOLIOPSIDA

**SUB CLASE:** ASTERIDAE

**ORDEN:** ASTERALES

**FAMILIA:** ASTERACEAE

**GENERO:** *Senecio*

**ESPECIE:** *Senecio nutans* Sch.Bip

Nombre vulgar: "wiskataya"

Determinada por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 15 de noviembre de 2016



**Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA**  
JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

DD8

**Figura 18.** Constancia de identificación de *Senecio nutans* Sch. Bip.

## ANEXO 2

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA <b>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</b></p> <hr/> <p><i>"Año de la Consolidación del Mar de Grau"</i></p>	
---	--	---

**CONSTANCIA N°260-USM-2016**

EL JEFE (E ) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tallo y hojas) recibida de **Hattie ALDERETE ESPEJO**, estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor De San Marcos, ha sido estudiada y clasificada como: ***Senecio calvus*** Cuatrec y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: ASTERIDAE**

**ORDEN: ASTERALES**

**FAMILIA: ASTERACEAE**

**GENERO: *Senecio***

**ESPECIE: *Senecio calvus* Cuatrec**

Nombre vulgar: "huamanripa"  
Determinado por Mag. Hamilton Beltrán Santiago.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 21 de noviembre de 2016



**Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA**  
JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

---

Av. Arenales 1256, Jesús María Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú	Telfs. (511)471-0117, 470-4471 265-6819, 619-7000 anexo 5703	e-mail: museohn@unmsm.edu.pe <a href="http://museohn.unmsm.edu.pe">http://museohn.unmsm.edu.pe</a>
--	---	---

**Figura 19.** Constancia de identificación de *Senecio calvus* Cuatrec.

## ANEXO 3



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**



"Año de la Consolidación del Mar de Grau"

### CONSTANCIA N° 254-USM-2016

EL JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa), recibida de **Hattie ALDERETE ESPEJO**, estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Senecio chiquianensis*** Cabrera y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION:** MAGNOLIOPHYTA

**CLASE:** MAGNOLIOPSIDA

**SUB CLASE:** ASTERIDAE

**ORDEN:** ASTERALES

**FAMILIA:** ASTERACEAE

**GENERO:** *Senecio*

**ESPECIE:** *Senecio chiquianensis* Cabrera

Nombre vulgar: "remilla"

Determinada por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 15 de noviembre de 2016

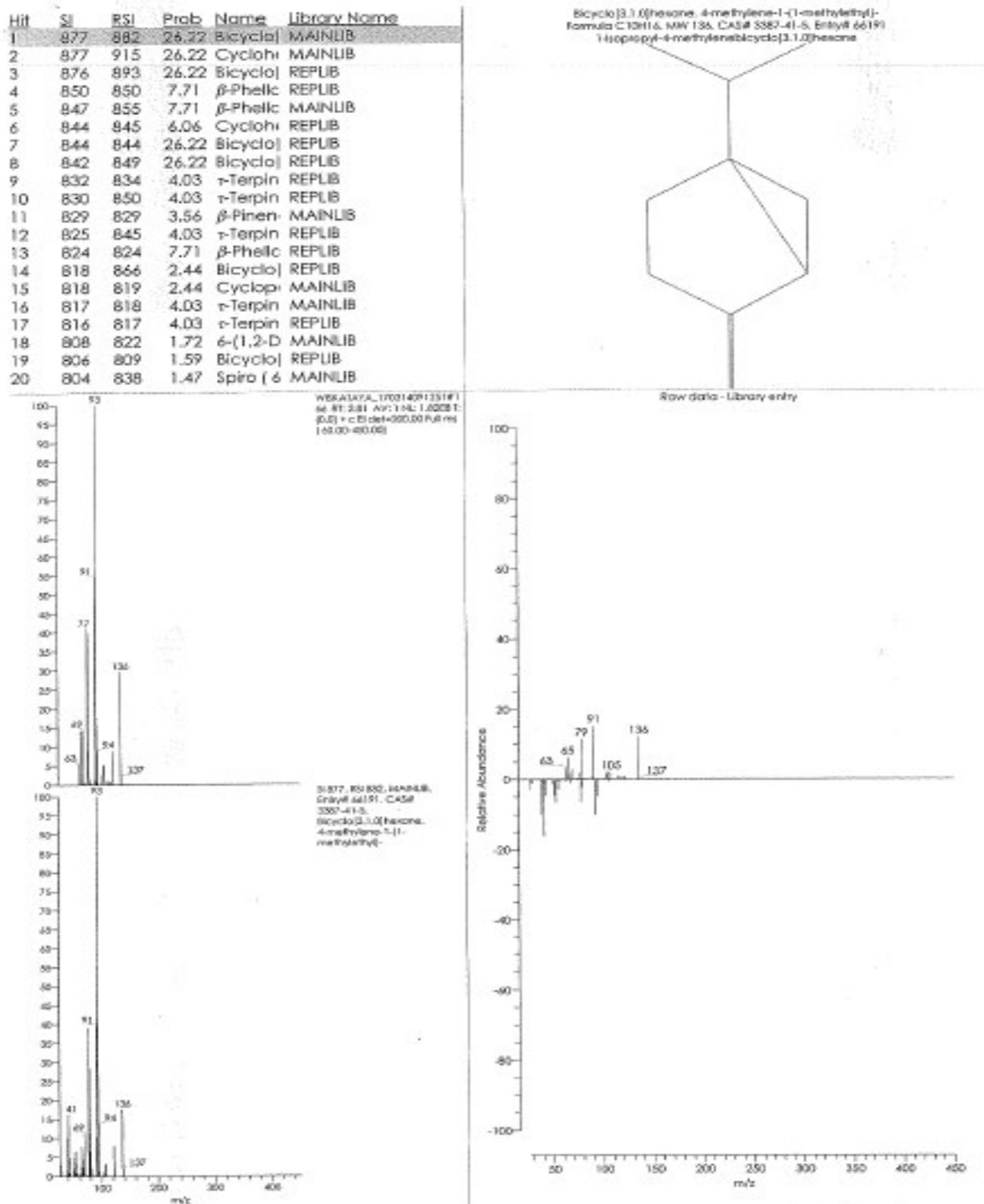


  
**Mag. ASUNCION A. CANO ECHEVARRIA**  
JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

DD8

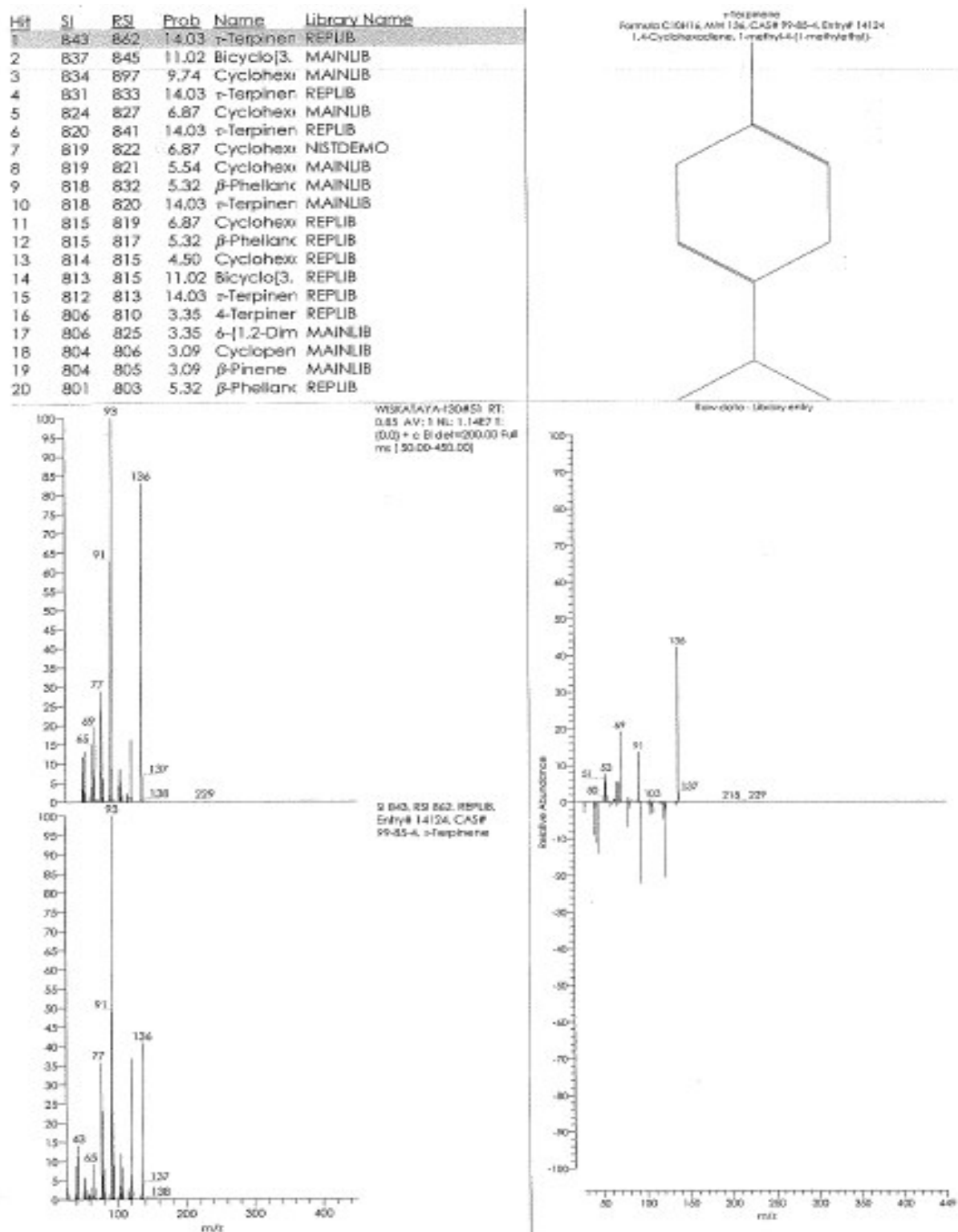
**Figura 20.** Constancia de identificación de *Senecio chiquianensis* Cabrera.

## ANEXO 4



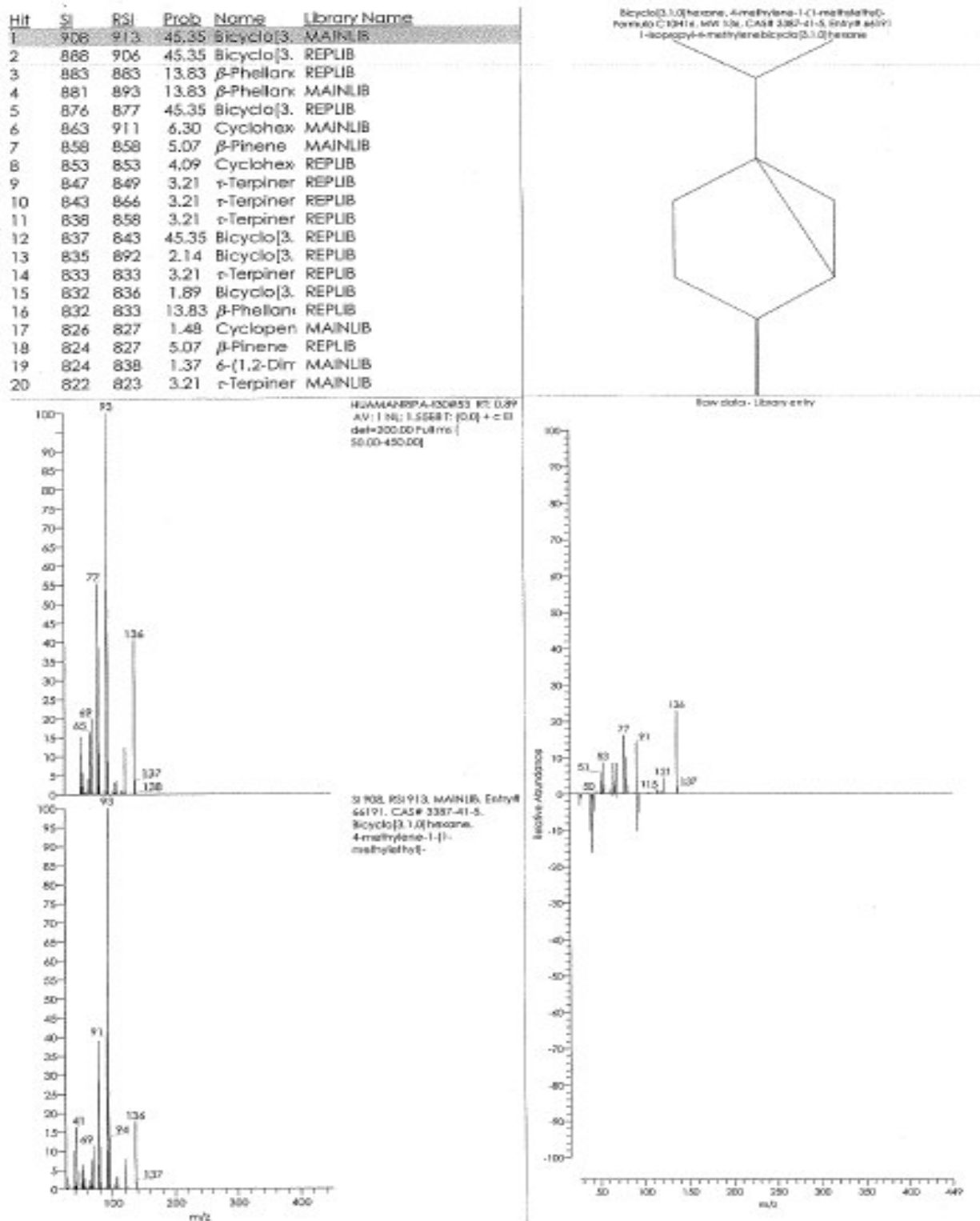
**Figura 21.** Elucidación del componente 1-isopropil- 4-metil biciclo [3.1.0] hexano en AE de *Senecio nutans* Sch. Bip.

## ANEXO 5



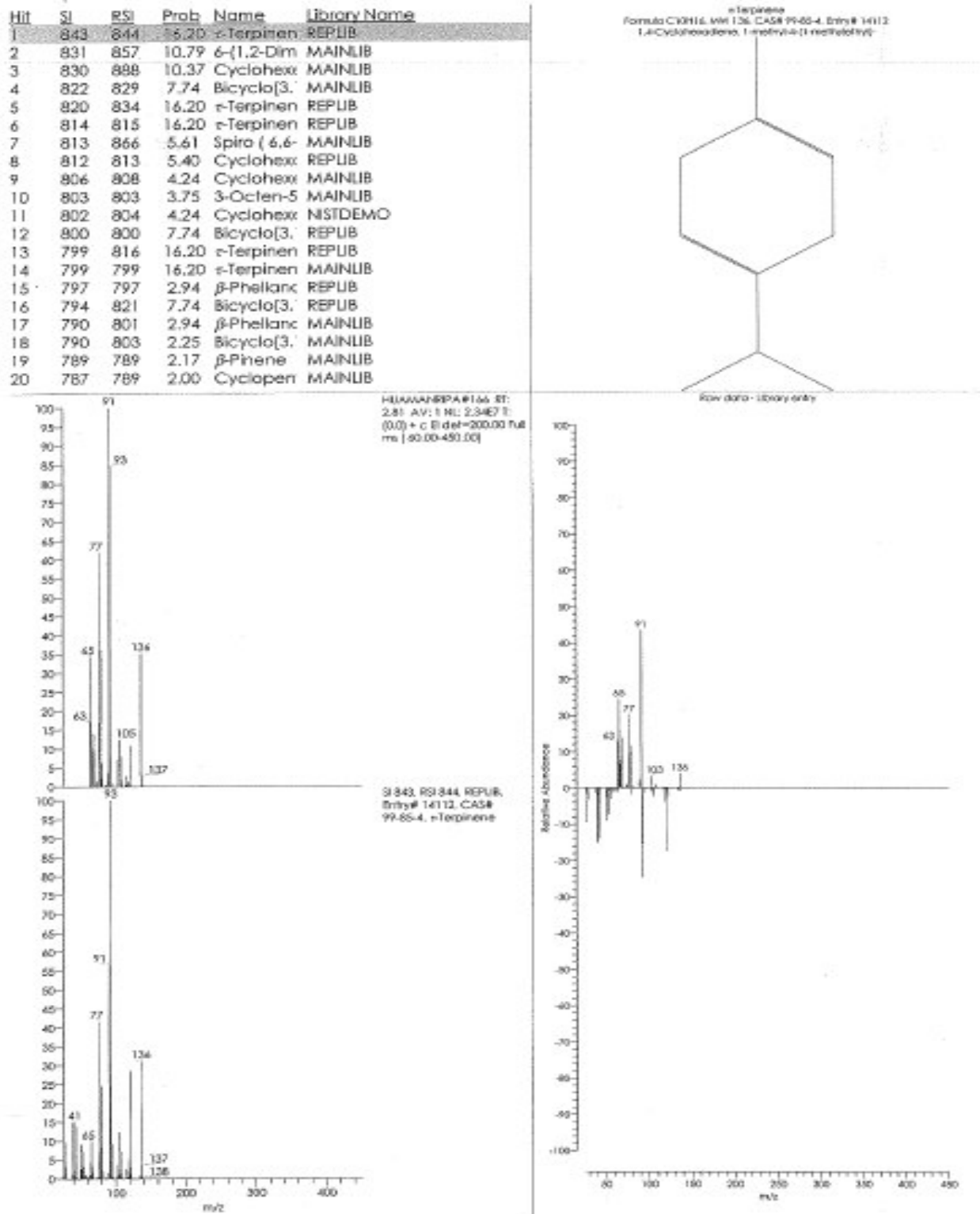
**Figura 22.** Elucidación del componente  $\gamma$ -terpineno en AE de *Senecio nutans* Sch. Bip.

## ANEXO 6



**Figura 23.** Elucidación del componente 1-isopropil- 4-metil bicyclo [3.1.0] hexano en AE de *Senecio calvus* Cuatrec.

## ANEXO 7



**Figura 24.** Elucidación del componente  $\gamma$ -terpineno en AE de *Senecio calvus* Cuatrec.

## ANEXO 8

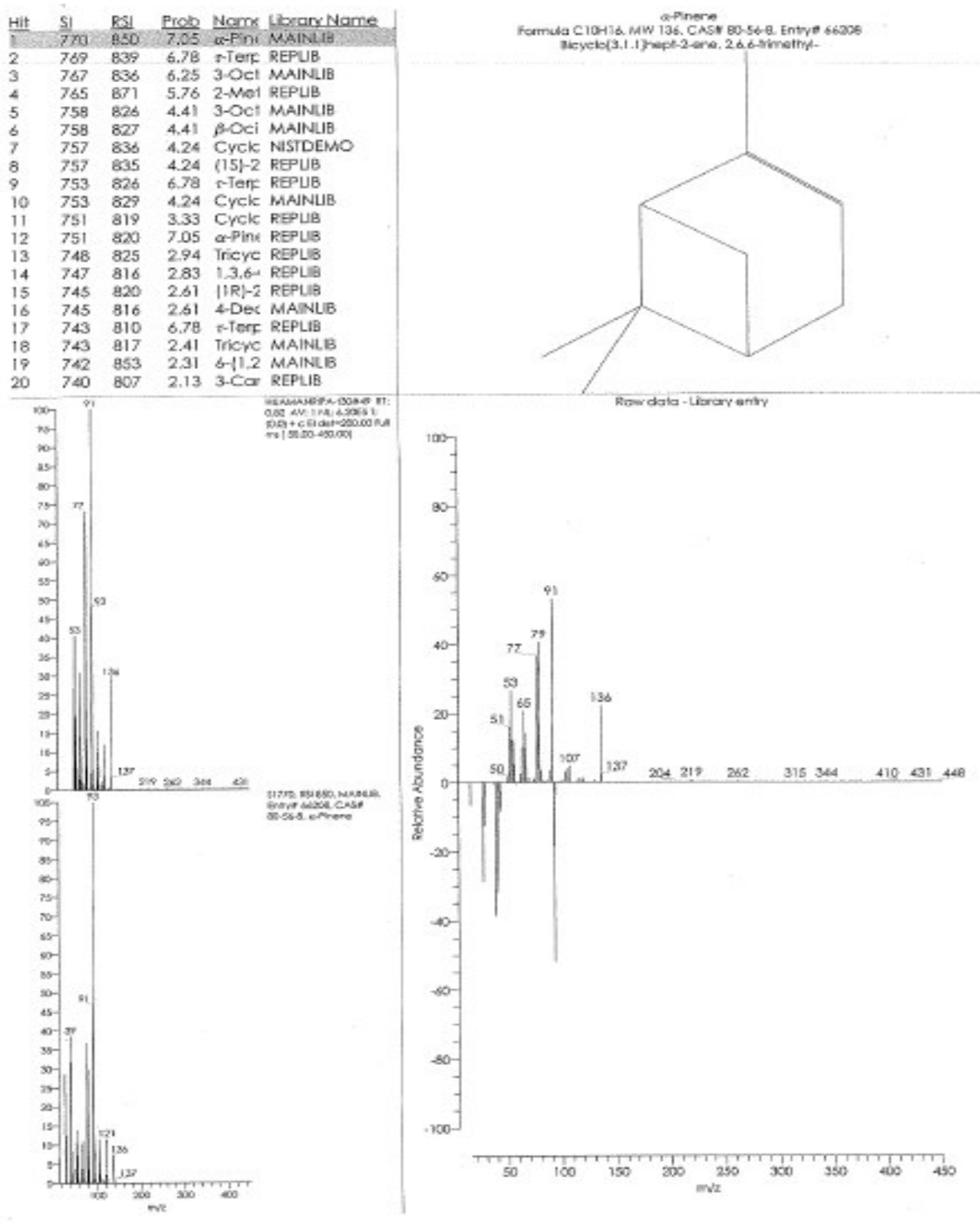
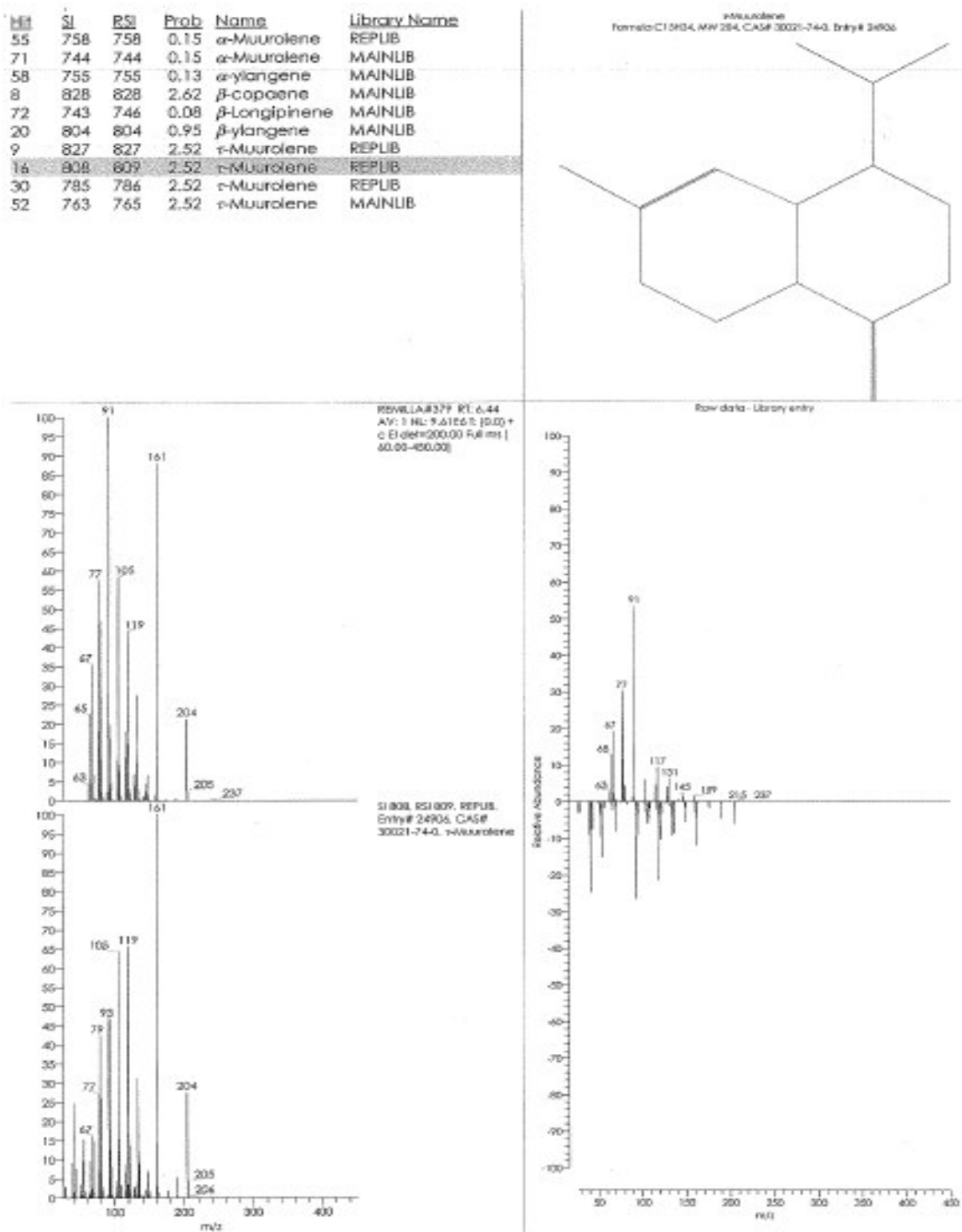


Figura 25. Elucidación del componente  $\alpha$ -Pino en AE de *Senecio calvus* Cuatrec.

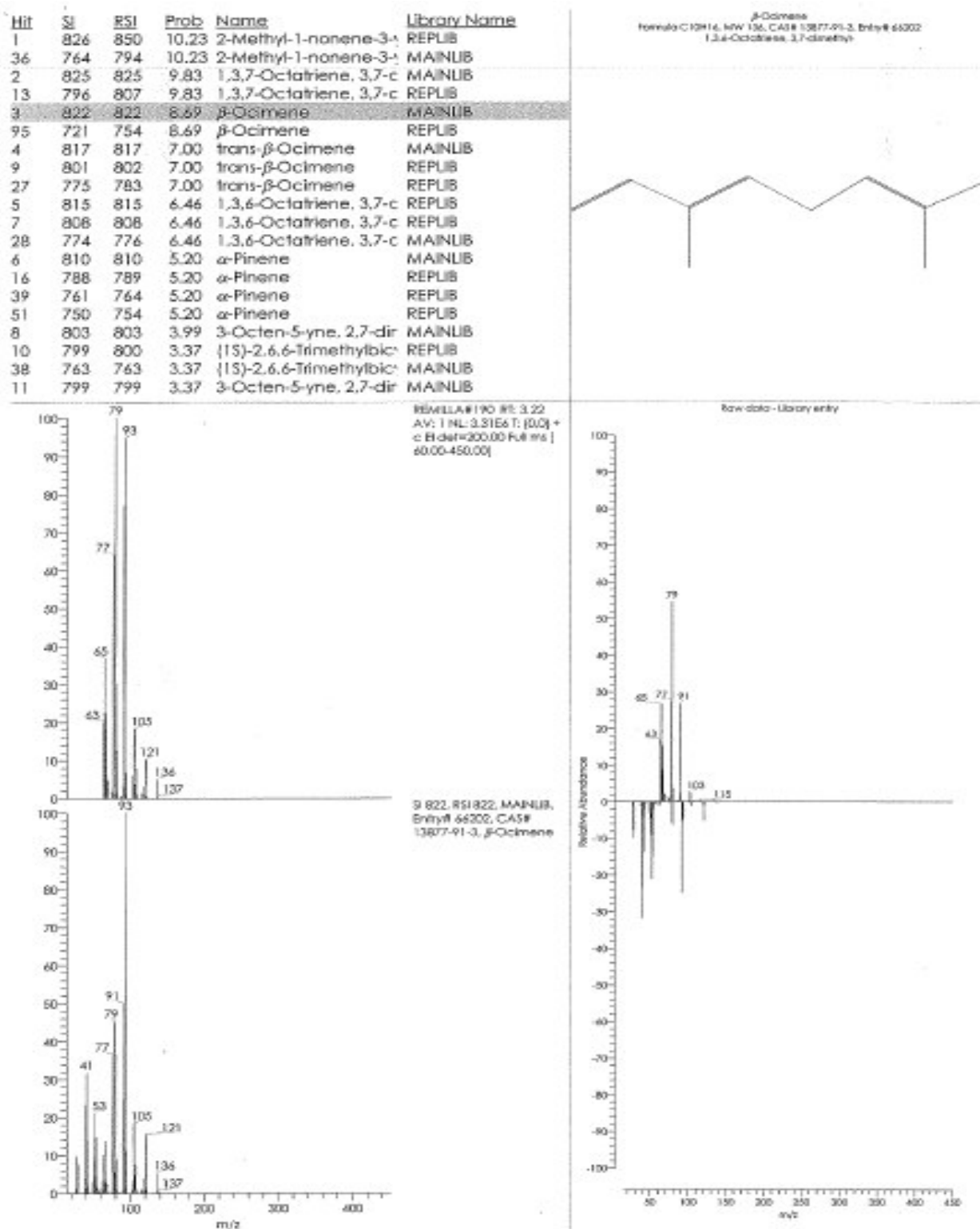


## ANEXO 9



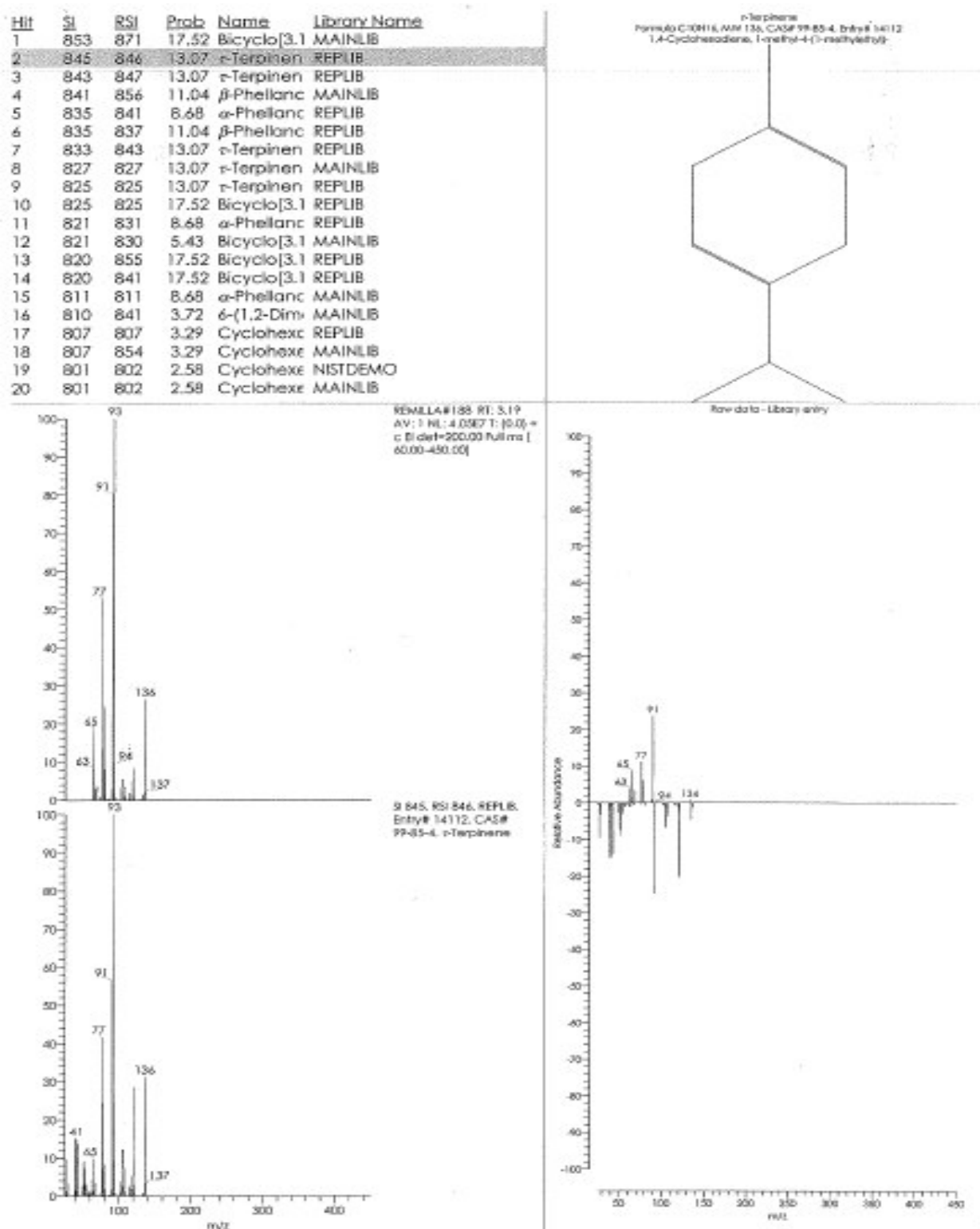
**Figura 26.** Elucidación del componente  $\gamma$ -Muroleno en AE de *Senecio chiquianensis* Cabrera.

## ANEXO 10



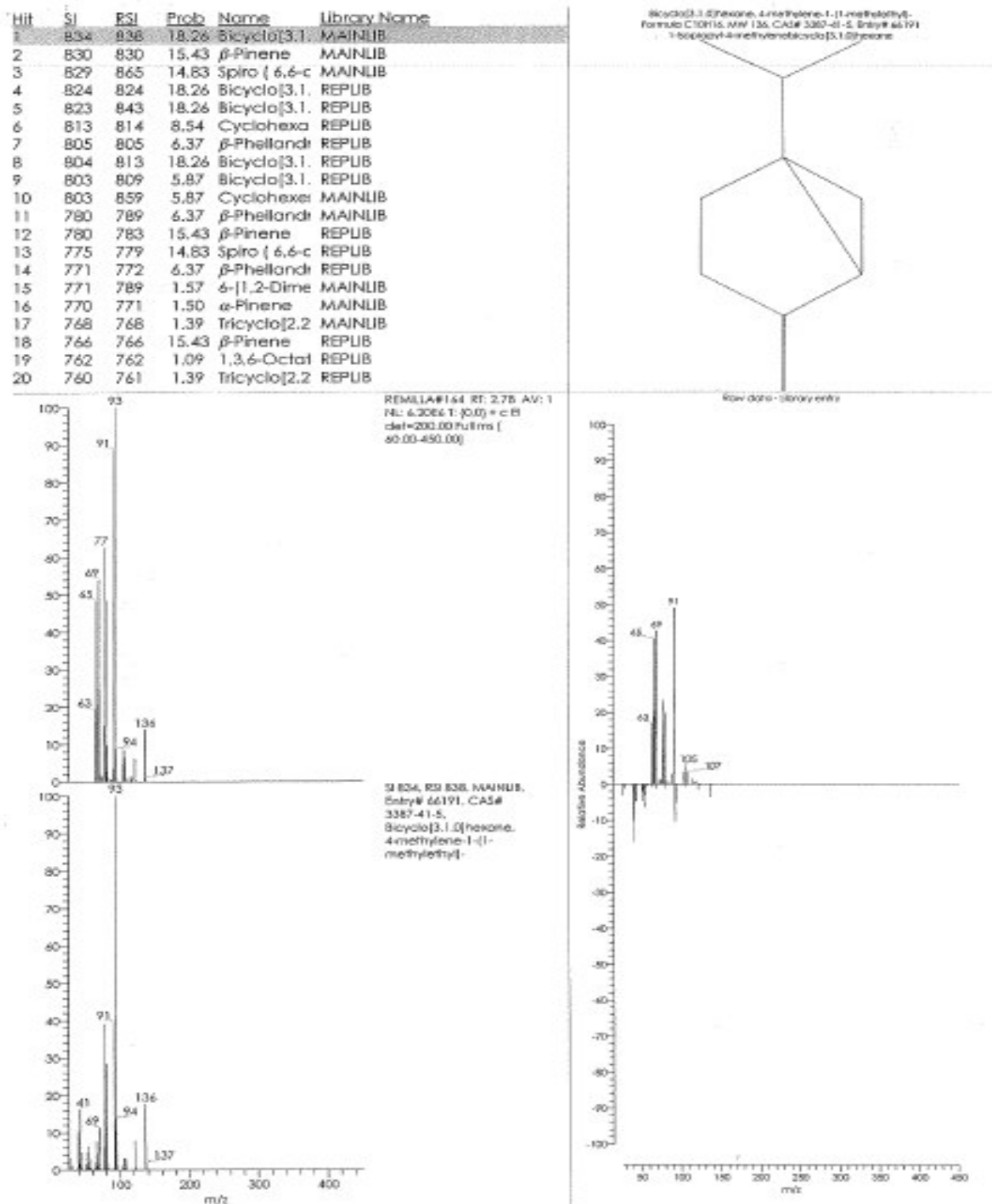
**Figura 27.** Elucidación del componente  $\beta$ -Ocimeno en AE de *Senecio chiquianensis* Cabrera.

## ANEXO 11



**Figura 28.** Elucidación del componente  $\gamma$ -terpineno en AE de *Senecio chiquianensis* Cabrera.

## ANEXO 12



**Figura 29.** Elucidación del componente 1-isopropil- 4-metil biciclo [3,1,0] hexano en AE de *Senecio chiquianensis* Cabrera.

## ANEXO 13

**Tabla 16.** Prueba de Tukey – Comparaciones múltiples (AE de *Senecio nutans* Sch. Bip “Wiskataya”)

<i>Variable dependiente: Absorbancias</i>						
DHS Tukey						
(I) GRUPOS	(J) GRUPOS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
	41,4 µg/mL	1,311333 <sup>*</sup>	0,074846	0,00	107,165	155,102
0 µg/mL	82,8 µg/mL	2,820333 <sup>*</sup>	0,074846	0,00	2,58065	3,06002
	165,6 µg/mL	3,746000 <sup>*</sup>	0,074846	0,00	3,50632	3,98568
	0 µg/mL	-1,311333 <sup>*</sup>	0,074846	0,00	-1,55102	-1,07165
41,4 µg/mL	82,8 µg/mL	1,509000 <sup>*</sup>	0,074846	0,00	1,26932	1,74868
	165,6 µg/mL	2,434667 <sup>*</sup>	0,074846	0,00	2,19498	2,67435
	0 µg/mL	-2,820333 <sup>*</sup>	0,074846	0,00	-3,06002	-2,58065
82,8 µg/mL	41,4 µg/mL	-1,509000 <sup>*</sup>	0,074846	0,00	-1,74868	-1,26932
	165,6 µg/mL	0,925667 <sup>*</sup>	0,074846	0,00	0,68598	1,16535
	0 µg/mL	-3,746000 <sup>*</sup>	0,074846	0,00	-3,98568	-3,50632
16,6 µg/mL	41,4 µg/mL	-2,434667 <sup>*</sup>	0,074846	0,00	-2,67435	-2,19498
	82,8 µg/mL	-0,925667 <sup>*</sup>	0,074846	0,00	-1,16535	-0,68598

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

## ANEXO 14

**Tabla 17.** Análisis descriptivo: Intervalos generales de confianza al 95% (AE de *Senecio nutans* Sch. Bip “Wiskataya”).

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mín.	Máx.
					Límite inferior	Límite superior		
0 µg/mL	3	4,07200	0,130771	0,075501	3,74715	4,39685	3,996	4,223
41,4 µg/mL	3	2,76067	0,064291	0,037118	2,60096	2,92037	2,714	2,834
82,8 µg/mL	3	1,25167	0,077391	0,044682	1,05942	1,44392	1,205	1,341
165,6 µg/mL	3	0,32600	0,079925	0,046145	0,12746	0,52454	0,254	0,412
Total	12	210258	1,496759	0,432077	1,15159	3,05358	0,254	4,223

## ANEXO 15

**Tabla 18.** Prueba de Tukey – Comparaciones múltiples (AE de *Senecio calvus* Cuatrec “Huamanripa”)

Variable dependiente: Absorbancias						
HSD Tukey						
(I) GRUPOS	(J) GRUPOS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0 µg/mL	2,68 µg/mL	0,351333	0,363156	7,71	-0,81162	1,51429
	5,36 µg/mL	1,672000*	0,363156	0,08	0,50905	2,83495
	16,08 µg/mL	3,394000*	0,363156	0,00	2,23105	4,55695
2,68 µg/mL	0 µg/mL	-0,351333	0,363156	7,71	-1,51429	0,81162
	5,36 µg/mL	1,320667*	0,363156	0,27	0,15771	2,48362
	16,08 µg/mL	3,042667*	0,363156	0,00	1,87971	4,20562
5,36 µg/mL	0 µg/mL	-1,672000*	0,363156	0,08	-2,83495	-0,50905
	2,68 µg/mL	-1,320667*	0,363156	0,27	-2,48362	-0,15771
	16,08 µg/mL	1,722000*	0,363156	0,06	0,55905	2,88495
16,08 µg/mL	0 µg/mL	-3,394000*	0,363156	0,00	-4,55695	-2,23105
	2,68 µg/mL	-3,042667*	0,363156	0,00	-4,20562	-1,87971
	5,36 µg/mL	-1,722000*	0,363156	0,06	-2,88495	-0,55905

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

## ANEXO 16

**Tabla 19.** Análisis descriptivo: Intervalos generales de confianza al 95% (AE de *Senecio calvus* Cuatrec “Huamanripa”)

<i>Absorbancias</i>								
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mín.	Máx.
					Límite inferior	Límite superior		
0 µg/mL	3	0,40720	0,013077	0,007550	0,37471	0,43968	0,399	0,422
2.68 µg/mL	3	3,72067	0,876843	0,506246	1,54247	5,89887	3,199	4,733
5.36 µg/mL	3	2,40000	0,068235	0,039395	2,23050	2,56950	2,344	2,476
16.08 µg/mL	3	0,67800	0,026153	0,015100	0,61303	0,74297	0,648	0,696
Total	12	2,71767	1,442433	0,416394	1,80119	3,63414	0,648	4,733



## ANEXO 17

**Tabla 20.** Prueba de Tukey – Comparaciones multiples (AE de *Senecio chiquianensis* Cabrera “Remilla”).

<i>Variable dependiente: Absorbancias</i>						
HSD Tukey						
(I) GRUPOS	(J) GRUPOS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0 µg/mL	3,58 µg/mL	1683667 <sup>*</sup>	0,057974	0,00	1,49801	1,86932
	7,16 µg/mL	3675667 <sup>*</sup>	0,057974	0,00	3,49001	3,86132
	8,59 µg/mL	3894333 <sup>*</sup>	0,057974	0,00	3,70868	4,07999
3,58 µg/mL	0 µg/mL	-1,683667 <sup>*</sup>	0,057974	0,00	-1,86932	-1,49801
	7,16 µg/mL	1,992000 <sup>*</sup>	0,057974	0,00	1,80635	2,17765
	8,59 µg/mL	2,210667 <sup>*</sup>	0,057974	0,00	2,02501	2,39632
7,16 µg/mL	0 µg/mL	-3,675667 <sup>*</sup>	0,057974	0,00	-3,86132	-3,49001
	3,58 µg/mL	-1,992000 <sup>*</sup>	0,057974	0,00	-2,17765	-1,80635
	8,59 µg/mL	0,218667 <sup>*</sup>	0,057974	0,23	0,03301	0,40432
8,59 µg/mL	0 µg/mL	-3,894333 <sup>*</sup>	0,057974	0,00	-4,07999	-3,70868
	3,58 µg/mL	-2,210667 <sup>*</sup>	0,057974	0,00	-2,39632	-2,02501
	7,16 µg/mL	-0,218667 <sup>*</sup>	0,057974	0,23	-0,40432	-0,03301

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

## ANEXO 18

**Tabla 21.** Análisis descriptivo: Intervalos generales de confianza al 95% (AE de *Senecio chiquianensis* Cabrera “Remilla”).

Absorbancias								
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mín.	Máx.
					Límite inferior	Límite superior		
0 µg/mL	3	4,07200	0,130771	0,075501	3,74715	4,39685	3,996	4,223
3.58 µg/mL	3	2,38833	0,033501	0,019342	2,30511	2,47156	2,368	2,427
7.16 µg/mL	3	0,39633	0,036611	0,021137	0,30539	0,48728	0,366	0,437
8.59 µg/mL	3	0,17767	0,024542	0,014170	0,11670	0,23863	0,163	0,206
Total	12	1,75858	1,661074	0,479511	0,70319	2,81398	0,163	4,223